

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 22 日現在

機関番号：21601
 研究種目：基盤研究(C) (一般)
 研究期間：2013～2015
 課題番号：25461801
 研究課題名(和文) PETによるアミノ酸トランスポータ標的がん治療のモニタリング法の開発に関する研究

 研究課題名(英文) Monitoring of amino acid transporter targeted therapy with 18F-FAMT PET

 研究代表者
 織内 昇(oriuchi, noboru)

 福島県立医科大学・公私立大学の部局等・教授

 研究者番号：40292586
 交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：L型アミノ酸トランスポーター(LAT1)は、がん細胞特異的に発現し、胆管がんをはじめとするがんの増殖や患者の予後と関連する。LAT1は必須アミノ酸の取り込みの他、mTOR系を介する細胞増殖シグナル伝達に関与しており、その阻害はがんの標的治療となる。
 L-[3-18F]-³-methyl tyrosine (18F-FAMT)は、がん特異性が高く、集積程度がLAT1発現と関連し患者の予後とも関連する。またLAT1阻害はアミノ酸の取り込みや細胞増殖を抑制する。これらのことから18F-FAMT-PETは、LAT1標的がん治療の適応判断や治療効果の判定に役立つ画像マーカーとして有用と考えられた。

研究成果の概要(英文)：The present studies disclosed roles of L-type amino acid transporter 1 (LAT1) for growth and prognosis in a variety of cancer, suggesting that LAT1 would be a molecular target of anti-cancer therapy. Clinical significance of L-[3-18F]-³-methyl tyrosine (18F-FAMT) PET have been examined. 18F-FAMT is accumulated in tumor specifically via LAT1, therefore, 18F-FAMT PET would be a marker of LAT1 expression. Uptake of 18F-FAMT could differentiate between benign lesions and malignant tumors. Additionally, the high uptake of 18F-FAMT could predict poor outcome of patients. 18F-FAMT PET would be an imaging marker of LAT1-targeted therapy.
 LAT1 inhibitor 2-aminobicyclo-(2,2,1)-heptane-2-carboxylic acid (BCH) inhibited [14C] L-leucine uptake in human cholangiocarcinoma cell line named HuCCT1, and decreased proliferation of cells and growth of xenograft in nude mice. Moreover, prognostic potential of ASC amino-acid transporter 2 (ASCT2) have been shown in biliary tract cancers.

研究分野：分子イメージング

キーワード：LAT1 アミノ酸トランスポーター ポジトロンCT 18F-FAMT 分子標的治療 PET

1. 研究開始当初の背景

L型アミノ酸トランスポーター(LAT1)は、がん細胞特異的に発現する必須アミノ酸輸送体である。LAT1はがん細胞の増殖などがんの進行に関与しており、がん治療の標的となり得る。アミノ酸の¹⁸F標識体である [¹⁸F] fluoro- -methyltyrosine (¹⁸F-FAMT, 以下FAMTとする)は、LAT1の基質であるため、LAT1を標的とするがん治療の適応や治療効果の評価法として有用と考えられる。

がんの治療効果判定や予後評価に¹⁸F標識デオキシグルコース(¹⁸F-FDG, 以下FDGとする)によるPETの有用性が示されている。固形がんの治療効果判定に用いられるRECIST (Response evaluation criteria in solid tumor)は、腫瘍細胞のviabilityを正確に反映しないため、代謝画像であるPETが有用視されている。

研究代表者は、以前からがん診療にFDG PETを広く利用し、分子標的治療や治療効果判定にも応用してきた(*Lung Cancer* 59: 203, 2008)。また腫瘍特異性が低いFDGの弱点を補うトレーサとしてFAMTを合成して臨床応用を行い、FAMTが腫瘍特異性の高いトレーサであることを明らかにしてきた。(*Cancer Sci* 97: 1291, 2006; *Chest* 131: 1019, 2007)。治療応用は、難治性のがんを対象にすることが適切と考え、膵がんにおけるLAT1の発現が術後の予後と相関し、細胞増殖や低酸素ならびに血管増殖などの病理マーカーと相関することを明らかにした(*Br J Cancer* 107: 632, 2012)。がんにおけるLAT1の意義と分子標的治療への応用、ならびにサロゲートマーカーとしてのFAMT PETの役割についてのコンセプトを検証するため、進行胆管がんを対象として、LAT1の阻害によるがんの標的治療における標的分子発現の特異的な評価法として、FAMT PETによる治療モニタリングの開発を行う。

2. 研究の目的

アミノ酸の¹⁸F標識体である [¹⁸F] fluoro- -methyltyrosine (¹⁸F-FAMT, 以下FAMTとする)は、がん特異的なアミノ酸トランスポーターであるLAT1の基質であるため、LAT1を標的とするがん治療に、FAMT PETが応用可能である。これまでの研究で、¹⁸F-FAMT PETが、肺がんの診断や治療効果の評価に有用であることを明らかにした。LAT1は細胞増殖に不可欠な必須アミノ酸を細胞内に輸送すると同時に、mTOR系のシグナル伝達を制御するため、LAT1の阻害はがんの分子標的治療となる。

したがって¹⁸F-FAMT PETはLAT1を標的とするがん治療のモニタリングに有用であるとの仮説のもと、進行胆管がんを対象に、LAT1阻害による分子標的治療の非侵襲的な評価法としての¹⁸F-FAMT PETの有用性を検証する。

3. 研究の方法

LAT1を標的とするがん治療のモデルとして、LAT1を高発現するヒト胆管がんの樹立細胞HuCCT1のin vitroにおける抗腫瘍効果ならびに同細胞を移植した腫瘍モデルに対するLAT1阻害による治療の実験を行う。治療前後に動物用PETで腫瘍のFAMT集積を定量化して治療効果と比較する。標準治療とされるGemcitabineと5-FUを対照とし、LAT1阻害の上乗せ効果も検討する。

臨床研究としては、化学療法ならびに外科治療を行う胆管がん患者にFAMT PETを行い、切除した胆管がんのLAT1発現を臨床指標および病理学的な悪性度指標と比較し、FAMTの集積を治療効果との比較から治療効果判定におけるFAMT PETの有効性を評価する。

4. 研究成果

L型アミノ酸トランスポーター(LAT1)は、癌細胞特異的に発現している (Figure 1)。

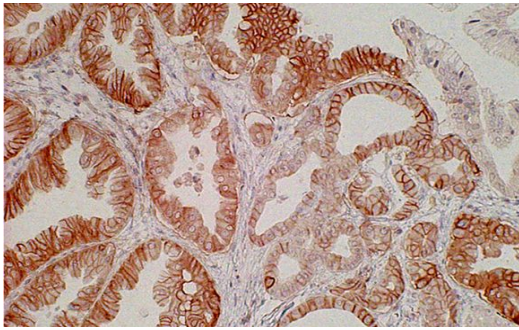


Figure 1 Immunohistochemical staining of tissue from a 79-years old man with extrahepatic cholangiocarcinoma demonstrates a membranous staining of LAT1.

本研究では、胆管がんにおいて、LAT1の発現は腫瘍の増殖と患者の予後と相関することを明らかにした (Figure 2)。

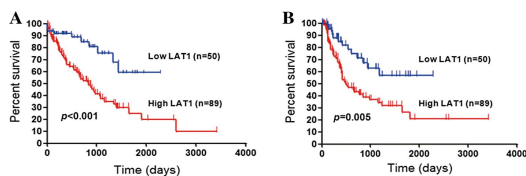


Figure 2 Kaplan-Meier analysis of overall survival (A) and progression-free survival (B) according to LAT1 expression. A statistically significant difference in OS and PFS was observed between patients with high and low LAT1 expression.

研究代表者は、L-[3-¹⁸F]-¹⁸F-methyl tyrosine (¹⁸F-FAMT)が、LAT1で特異的に輸送され、正常細胞に発現しているLAT2では輸送されないことを明らかにしてきた。また¹⁸F-FAMTの集積程度がLAT1発現と相関し、患者の予後とも相関することを明らかにした。

次にLAT1阻害によるがん治療として、ヒト胆管がん細胞HuCCT1に対して、in vitroでLAT1阻害剤である2-aminobicyclo-(2,2,1)-heptane-2-carboxylic acid (BCH)が容量依存性にアミノ酸 [¹⁴C] L-leucineの取り込みを阻害するとともに細胞増殖を抑制した。また Gemcitabine

と5-FUによる抗腫瘍効果は、LAT1阻害により増強されることを明らかにした (Figure 3)。

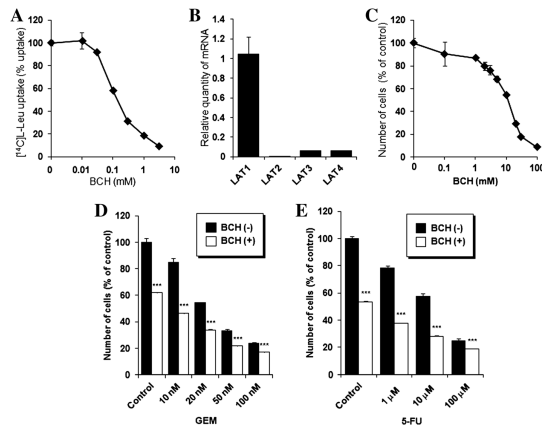


Figure 3 Effect of LAT inhibition on in vitro cellular proliferation and anti-tumor activity of GEM and 5-FU

(A) BCH inhibits [¹⁴C]L-leucine uptake concentration-dependently in HuCCT1 cells (n=4).

(B) Expression of LAT1, LAT2, LAT3, and LAT4 mRNA in HuCCT1 cells (n=4).

(C) BCH decreases number of HuCCT1 cells concentration-dependently (n=4).

(D, E) Addition of 10 mM BCH enhances anti-tumor effect of GEM (D) and 5-FU (E) on HuCCT1 cells (n=4). A statistically significant difference from the control is indicated by *** (P < 0.001).

さらにHuCCT1を移植した免疫不全マウスにBCHを投与したところ、腫瘍の増殖が有意に遅延した (Figure 4)。

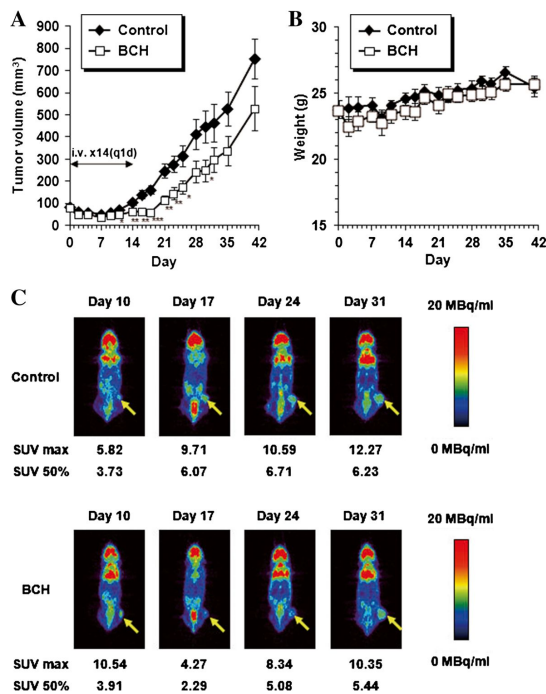


Figure 4 In vivo anti-tumor effect of LAT inhibition on cholangiocarcinoma xenograft

(A) Intravenous administration of BCH shows delay in the growth of HuCCT1 tumor (n=10). A statistically significant difference from the control is indicated by * (P<0.05), ** (P<0.01), and *** (P<0.001). (B) Changes in the body weight of HuCCT1 tumor-bearing mice after administration of BCH (n=10). (C) 18F-FDG PET coronal images of HuCCT1-bearing mice at 2 h after 18F-FDG injection. PET was performed after the day of grouping as indicated (n=2).

これらのことから、LAT1 を標的とするがん治療において、¹⁸F-FAMT-PET は、その適応判断や治療効果の判定に役立つ可能性があり、LAT1 標的治療の画像マーカーとして有用と考えられた。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

(雑誌論文)(計 16 件)

Wei L, Tominaga H, Ohgaki R, Wiriyasermkul P, Hagiwara K, Okuda S, Kaira K, Kato Y, Oriuchi N, Nagamori S, Kanai Y. Transport of 3-fluoro-L-³-methyl-tyrosine (FAMT) by organic ion transporters explains renal background in [¹⁸F]FAMT positron emission tomography. *J Pharmacol Sci* 130: 101-9, 2016. doi: 10.1016/j.jphs.2016.01.001.

Wei L, Tominaga H, Ohgaki R, Wiriyasermkul P, Hagiwara K, Okuda S, Kaira K, Oriuchi N, Nagamori S, Kanai Y. Specific transport of 3-fluoro-L-³-methyl-tyrosine by LAT1 explains its specificity to malignant tumors in imaging. *Cancer Sci* 107: 347-52. 2016. doi: 10.1111/cas.12878.

Kaira K, Nakamura K, Hirakawa T, Imai H, Tominaga H, Oriuchi N, Nagamori S, Kanai Y, Tsukamoto N, Oyama T, Asao T, Minegishi T. Prognostic significance of L-type amino acid transporter 1 (LAT1) expression in patients with ovarian tumors. *Am J Transl Res* 7: 1161-71, 2015.

Shimizu A, Kaira K, Kato M, Yasuda M, Takahashi A, Tominaga H, Oriuchi N, Nagamori S, Kanai Y, Oyama T, Asao T, Ishikawa O. Prognostic significance of L-type amino acid transporter 1 (LAT1) expression in cutaneous melanoma. *Melanoma Res* 25: 399-405, 2015. doi: 10.1097/CMR.000000000000181

Nikkuni O, Kaira K, Toyoda M, Shino M, Sakakura K, Takahashi K, Tominaga H, Oriuchi N, Suzuki M, Iijima M, Asao T, Nishiyama M, Nagamori S, Kanai Y, Oyama T, Chikamatsu K. Expression of Amino Acid Transporters (LAT1 and ASCT2) in Patients with Stage III/IV Laryngeal Squamous Cell Carcinoma. *Pathol Oncol Res* 21: 1175-81, 2015. doi: 10.1007/s12253-015-9954-3.

Kaira K, Arakawa K, Shimizu K, Oriuchi N, Nagamori S, Kanai Y, Oyama T, Takeyoshi I. Relationship between CD147 and expression of amino acid transporters (LAT1 and ASCT2) in patients with pancreatic cancer. *Am J Transl Res*. 2015 Feb 15;7(2):356-63. eCollection 2015

Namikawa M, Kakizaki S, Kaira K, Tojima H, Yamazaki Y, Horiguchi N, Sato K, Oriuchi N, Tominaga H, Sunose Y, Nagamori S, Kanai Y, Oyama T, Takeyoshi I, Yamada M. Expression of amino acid transporters

(LAT1, ASCT2 and xCT) as clinical significance in hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res* 45: 1014-22, 2015. doi: 10.1111/hepr.12431. [Epub ahead of print]

Kaira K, Sunose Y, Oriuchi N, Kanai Y, Takeyoshi I. CD98 is a promising prognostic biomarker in biliary tract cancer. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 13: 654-657, 2014.

Kaira K, Sunose Y, Arakawa K, Sunaga N, Shimizu K, Tominaga H, Oriuchi N, Nagamori S, Kanai Y, Oyama T, Takeyoshi I. Clinicopathological significance of ASC amino acid transporter-2 expression in pancreatic ductal carcinoma. *Histopathology* 66(2):234-243, 2014. doi: 10.1111/his.12464.

Isoda A, Kaira K, Oriuchi N, Tominaga H, Kanai Y. Expression of L-type amino acid transporter 1 (LAT1) as a prognostic and therapeutic indicator in multiple myeloma. *Cancer Sci* 105: 1496-1502, 2014. doi: 10.1111/cas.12529.

Toyoda M, Kaira K, Ohshima Y, Ishioka NS, Shino M, Sakakura K, Takayasu Y, Takahashi K, Tominaga H, Oriuchi N, Nagamori S, Kanai Y, Oyama T, Chikamatsu K. Prognostic significance of amino-acid transporter expression (LAT1, ASCT2, and xCT) in surgically resected tongue cancer. *Br J Cancer* 110: 2506-2513, 2014. doi: 10.1038/bjc.2014.178.

Suzuki S, Kaira K, Ohshima Y, Ishioka NS, Sohda M, Yokobori T, Miyazaki T, Oriuchi N, Tominaga H, Kanai Y, Tsukamoto N, Asao T, Tsushima Y, Higuchi T, Oyama T, Kuwano H. Biological significance of fluorine-18- -methyltyrosine (FAMT) uptake on PET in patients with oesophageal cancer. *Br J Cancer* 110: 1985-1991, 2014. doi: 10.1038/bjc.2014.142.

Shimizu K, Kaira K, Tomizawa Y, Sunaga N, Kawashima O, Oriuchi N, Tominaga H. ASC amino-acid transporter 2 (ASCT2) as a novel prognostic marker in non-small cell lung cancer. *Br J Cancer* 110: 2030-2039, 2014. doi: 10.1038/bjc.2014.88.

Kaira K, Sunose Y, Ohshima Y, Ishioka NS, Arakawa K, Ogawa T, Sunaga N, Shimizu K, Tominaga H, Oriuchi N, Itoh H, Nagamori S, Kanai Y, Yamaguchi A, Segawa A, Ide M, Mori M, Oyama T, Takeyoshi I. Clinical

significance of L-type amino acid transporter 1 expression as a prognostic marker and potential of new targeting therapy in biliary tract cancer. *BMC cancer* 13: 482, 2013. doi: 10.1186/1471-2407-13-482.

Nobusawa A, Kim M, Kaira K, Miyashita G, Negishi A, Oriuchi N, Higuchi T, Tsushima Y, Kanai Y, Yokoo S, Oyama T. Diagnostic usefulness of 18F-FAMT PET and L-type amino acid transporter 1 (LAT1) expression in oral squamous cell carcinoma. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 40: 1692-1700, 2013. doi: 10.1007/s00259-013-2477-9.

Kaira K, Toyoda M, Shino M, Sakakura K, Takahashi K, Tominaga H, Oriuchi N, Kanai Y, Oyama T, Chikamatsu K. Clinicopathological Significance of L-type Amino Acid Transporter 1 (LAT1) Expression in Patients with Adenoid Cystic Carcinoma. *Pathol Oncol Res* 19: 649-656, 2013. doi: 10.1007/s12253-013-9624-2.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

織内 昇 (ORIUCHI Noboru)

福島県立医科大学・先端臨床医研究センター・教授

研究者番号：40292586

(2) 研究分担者

富永英之 (TOMINAGA Hideyuki)

福島県立医科大学・先端臨床医研究センター・准教授

研究者番号：00393348

(3) 研究分担者

解良恭一 (KAIRA Kyouichi)

群馬大学大学院医学系研究科・がん治療臨床開発学講座・教授

研究者番号：40400783

(3) 研究分担者

大島康宏 (OSHIMA Yasuhiro)

量子科学技術研究開発機構 量子ビーム科学研究部門・博士研究員

研究者番号：00588676