

令和 3 年 6 月 24 日現在

機関番号：32203

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K10810

研究課題名(和文) LAT1を標的分子とした胸腺癌における新たな治療戦略の開発

研究課題名(英文) Development of new therapeutic strategies for thymic carcinoma targeting LAT1

研究代表者

千田 雅之 (Chida, Masayuki)

獨協医科大学・医学部・教授

研究者番号：70333812

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：ヒト胸腺悪性腫瘍におけるLAT1発現を検討した結果、LAT1は胸腺腫には発現せず、胸腺癌にのみ発現することからLAT1の発現は、胸腺腫と胸腺癌を鑑別するマーカーになりうることを、LAT1発現パターンが予後予測因子となりうるということが分かった。
in vitroの解析においては、LAT1の阻害は胸腺癌細胞株増殖を抑制することを明らかにしたが、HMG-CoA還元酵素阻害薬スタチンがより増殖を抑制することを見出した。スタチンによる増殖抑制はプレニル化阻害によることが分かった。ヒト胸腺癌細胞におけるHMG-CoA還元酵素の発現は顕著に亢進している一方、正常胸腺上皮細胞ではほとんど認められないことを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

希少がんである胸腺癌に対する研究はこれまであまり進んでこなかった。本研究では胸腺腫と同等に扱われがちな胸腺癌がその代謝においても全く異なるものであり、アミノ酸代謝、脂質代謝を阻害することで細胞増殖に抑制を加えられることを明らかにした。本研究で用いられたアミノ酸トランスポーターであるLAT1の阻害薬や、HMG-CoA還元酵素阻害薬スタチンの臨床での有用性の検討が今後必要となってくる。

研究成果の概要(英文)：As a result of examining LAT1 expression in human thymic malignancies, LAT1 is not expressed in thymoma but only in thymic carcinoma. Therefore, LAT1 expression can be a marker for distinguishing between thymoma and thymic carcinoma. It was found that the expression pattern can be a predictor of prognosis.
In vitro analysis revealed that inhibition of LAT1 suppressed the growth of thymic cancer cell lines, but found that the HMG-CoA reductase inhibitor statin further suppressed the growth. Growth inhibition by statins was found to be due to inhibition of prenylation. It was found that the expression of HMG-CoA reductase in human thymic carcinoma cells was markedly enhanced, while it was hardly observed in normal thymic epithelial cells.

研究分野：呼吸器外科

キーワード：LAT1 スタチン 胸腺癌 胸腺上皮性腫瘍

1. 研究開始当初の背景

胸腺癌、浸潤型胸腺腫など胸腺上皮性悪性腫瘍は稀な疾患ということもあり、肺癌に比べその研究は遅れている。近年、胸腺癌は胸腺腫とは独立した疾患であるとされた一方、type B3、type A 胸腺腫からの胸腺癌への移行も時に認められることが知られている。これまでの探索的研究では、胸腺癌と胸腺腫の比較において、一般的な癌関連遺伝子の発現に有意な変化は認められなかった (①) 一方で、必須アミノ酸トランスポーターのひとつである中性アミノ酸トランスポーター (L-type amino acid transporter 1: LAT1) 阻害薬が胸腺癌細胞株において顕著に増殖抑制することを見出した (②)。しかし、その臨床的意義は未だ明らかでない。

2. 研究の目的

本研究では、本研究は胸腺癌における癌細胞特異的発現を示す LAT1 の重要性について、患者検体および胸腺癌由来培養細胞という臨床および基礎的な視点から検討を行うことで、LAT1 を分子標的とする診断および治療の可能性を検討し、胸腺癌における新たな治療戦略の確立を目指すことを目的とし、1) 胸腺癌、胸腺腫のヒト切除検体を用いた LAT1 発現及びその意義、2) 胸腺癌培養細胞株を用いた LAT1 およびそれ以外の治療候補物質による細胞増殖抑制効果についての検討を行う。胸腺癌培養細胞株を用いた LAT1 の増殖抑制効果は既に報告 (②) していることから、その他の治療候補薬のうち 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase (HMGCR) の阻害薬である fluvastatin の胸腺癌細胞株への細胞増殖抑制効果を検討する。

3. 研究の方法

- (1) 胸腺腫、胸腺癌の検体における LAT1 の発現を免疫染色にて検討した。
- (2) 胸腺癌由来培養細胞 Ty82 (Japanese Collection of Research Bioresource Cell Bank 社、茨城) を用い以下の実験を行なった。Ty82 の培養は 10%FCS を含む RPMI1640 にて行なった。

①Ty82 細胞の HMGCR 発現の検討：Ty82 細胞の HMGCR の発現を Western-blot 法にて検討。

②HMGCR の阻害実験：HMGCR の阻害薬である fluvastatin の、Ty82 への効果を検討するため、培養細胞数、細胞死、細胞周期を測定した。細胞周期の解析は、細胞を 3 日間培養し、70%エタノール 30 分、4°Cにて処理し、propidium iodide にて染色し、FACS にて測定した。

③ゲラニルゲラニルニリン酸(GGPP)と squalene：fluvastatin が HMGCR を介した細胞増殖の変化が、どの代謝物質の阻害によるかを明らかにするため、ERK1/2 のリン酸化、脱リン酸化を anti-ERK1/2 抗体 (Abcam 社、USA)、anti-phospho ERK1/2 抗体 (Cell Signaling Technology 社、USA) を用いて、immunoblot 法にて測定した。

- (3) また、胸腺癌、胸腺検体における HMGCR の発現を免疫染色にて検討した。

4. 研究成果

- (1) ヒト胸腺腫には LAT1 は発現せず、胸腺癌にのみ LAT1 が発現していた。胸腺癌における LAT1 の発現は細胞質内のみを発現する場合と、細胞膜へも発現する場合があります、後者で予後不良であった (図 1 A,B)

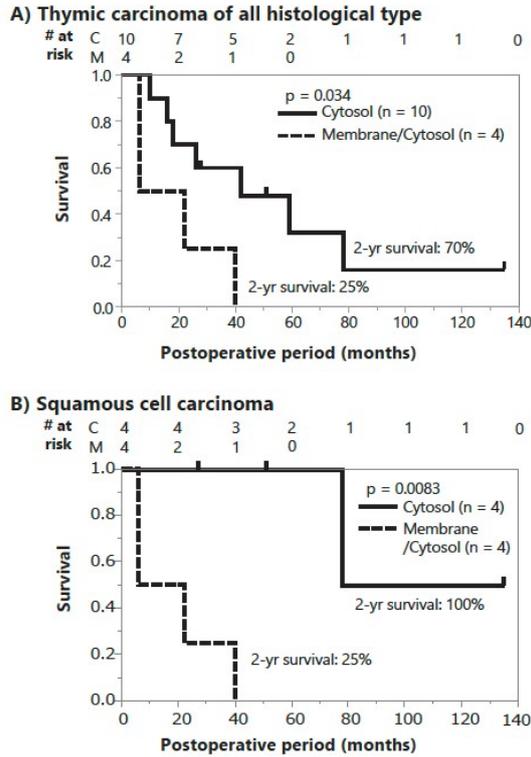


図 1.

- (2) ①胸腺癌培養細胞 Ty82 に HMGCR の発現を認めた (図 2 A)。HMGCR の阻害薬である fluvastatin は濃度依存的に Ty82 細胞の細胞増殖を阻害した (図 2 B)。Ty82 における細胞増殖に HMGCR が重要な役割を果たしていることが示された。

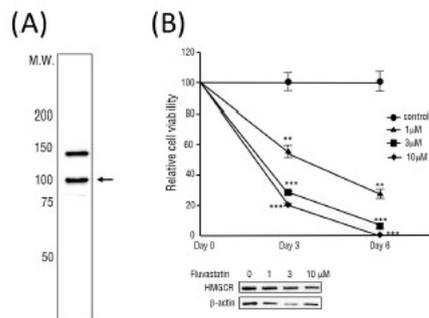


図 2 AB.

② 細胞周期の検討を行うと、fluvastatin により、S 期の細胞数が減少し、G1 期の細胞数が増加していた (図 2 C)。fluvastatin の Ty82 細胞への増殖抑制効果は、細胞死 (図 2 D) と分裂阻止の両者に寄ることが示された。

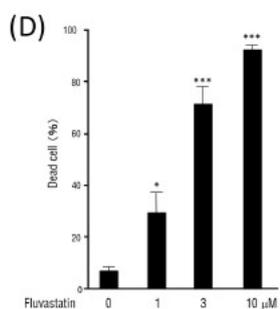
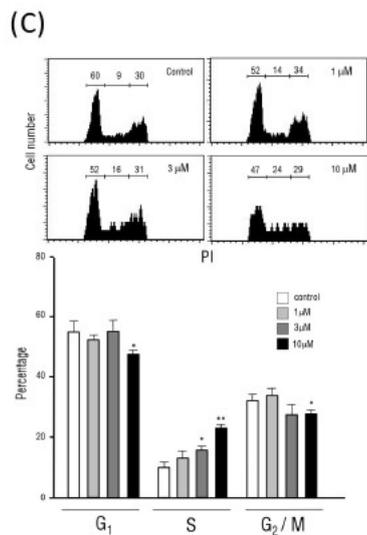


図 2 CD.

③ Fluvastatin は HMGR 阻害を介し、GGPP によるイソプレニル化を抑制することで、細胞増殖を抑制した (図 3 A,B)。

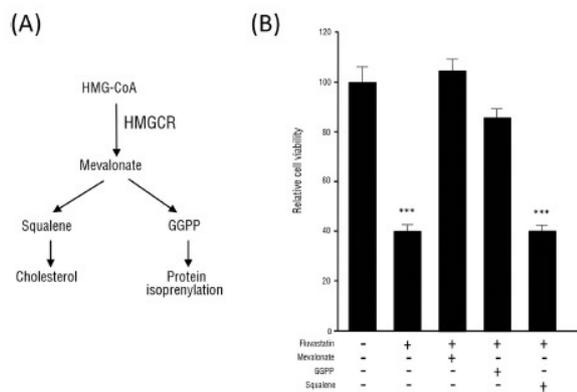


図 3.

- ④ また、その機序として ERK のリン酸化の阻害をもたらすことにより細胞増殖を抑制すると考えられた (図 4 A,B,C)。

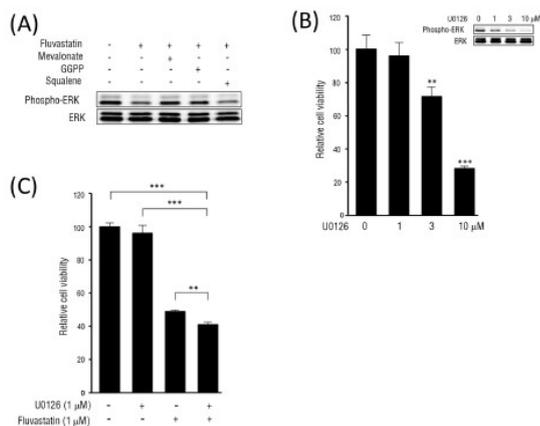


図 4 .

- (3) ヒト切除検体において、胸腺組織には HMGCR の発現は認めず、胸腺癌にのみ、HMGCR の発現を認めた (図 5)。

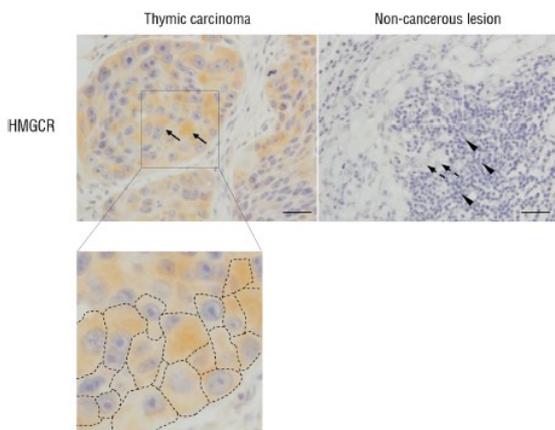


図 5 .

引用文献

- ① Seki N, Sakamoto S, Karube Y, Oyaizu T, Ishihama H, Chida M. 18 F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography for evaluation of thymic epithelial tumors: utility for World Health Organization classification and predicting recurrence-free survival. *Ann Nucl Med* 28, 2014, 257-262.
- ② Hayashi K, Jutabha P, Maeda S, Supak Y, Ouchi M, Endoh H, et al. LAT1 acts as a crucial transporter of amino acids in human thymic carcinoma cells. *J Pharmacol Sci* 132, 2016, 201-204.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Hayashi K, Nakazato Y, Morido N, Sagi M, Anzai N, Chida M.	4. 巻 240
2. 論文標題 Fluvastatin prevents thymic carcinoma growth.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Life Sci	6. 最初と最後の頁 117110-117110
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.lfs.2019.117110	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Maeda S, Nakazato Y, Hayashi K, Nishihira M, Inoue T, Araki O, Karube Y, Kobayashi S, Chida M.	4. 巻 246
2. 論文標題 L-type amino acid transporter 1 immunoreactivity as a possible diagnostic and prognostic marker of thymic carcinoma.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Tohoku J Exp Med	6. 最初と最後の頁 167-174
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1620/tjem.246.167.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	林 啓太郎 (Hayashi Keitaro) (10323106)	獨協医科大学・医学部・准教授 (32203)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------