

令和 5 年 6 月 10 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K07755

研究課題名(和文) 癌治療標的ならびに治療効果予測マーカーとしてのアミノ酸トランスポーターの意義

研究課題名(英文) The significance of the amino acid transporter as a cancer therapeutic targets as well as therapeutic effect predictive marker

研究代表者

小栗 鉄也 (Tetsuya, Oguri)

名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・教授

研究者番号：60363925

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：アミノ酸トランスポーターの中で、がん細胞で働くL-type amino acid transporter1 (LAT1)に着目し、肺がん細胞を用いて、がん細胞における役割とその阻害効果について検討した。LAT1阻害による効果を検討したところ、細胞増殖抑制効果を認めた。LAT1抗体により、下流シグナルであるmTOR経路の活性化を認めたが、mTOR経路からのフィードバックによるLAT1発現の再上昇も認めた。しかしLAT1抗体とmTOR阻害剤との併用ではさらなる増殖抑制効果は認めなかった。LAT1はがん治療標的の候補ではあるが、アミノ酸代謝リプログラミング因子のさらなる検討が必要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がん細胞の増殖においてアミノ酸取り込みにLAT1が関与し、その阻害で増殖抑制につながることは明らかであるが、細胞内の増殖に関わるシグナルに関しては、LAT1の抑制のみでは困難なため、LAT1のみをターゲットとした治療戦略が、特に肺癌では難しいと思われる。このため、アミノ酸代謝にターゲットとした治療戦略を考える場合、がん細胞におけるアミノ酸代謝のリプログラミングに関わる因子や併用治療のさらなる検討が必要であると考えられた。

研究成果の概要(英文)：Among amino acid transporters, we focused on L-type amino acid transporter1 (LAT1) and investigated about the role and its inhibitory effect in cancer cells, by using lung cancer cells. We examined the inhibitory effects of LAT1, and found cell growth inhibition in cancer cells. After treatment of LAT1 antibody, the mTOR pathway was activated, which is a downstream signal, however also re-elevated LAT1 expression by feedback from the mTOR pathway. The combined use of LAT1 antibody and mTOR inhibitor did not show further cell growth inhibitory effects. Although LAT1 is a candidate cancer therapeutic target, further examination is necessary to clarify the factors involved in amino acid metabolic reprogramming is required.

研究分野：肺癌

キーワード：LAT1 mTOR

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

手術不能な進行がんの治療は、分子標的治療や免疫チェックポイント阻害剤の登場により劇的に変化し、予後は改善されてきている。従来からの化学療法も、分子標的治療薬や免疫チェックポイント阻害剤の適応がない場合、あるいは効果がなくなった場合に、選択される重要な治療選択の一つである。またがん種によっては、化学療法が分子標的治療薬や免疫チェックポイント阻害剤との併用で一次治療に用いられる場合もあり、各種がん治療のガイドラインでも推奨されている。しかしその恩恵を受けるのはまだ一部のがん種、症例にとどまっており、新たな癌治療の開発研究が必要である。がん細胞は正常細胞に比べ増殖が速く、細胞内代謝が亢進している。このため正常細胞に比べ、より多くの栄養を必要とする。がん細胞に限らず、すべての細胞で糖やアミノ酸は生存のために必要であるが、これら栄養素を細胞内に効率よく取り込むために、細胞膜上にトランスポーターが存在する。トランスポーターにはATPをエネルギーとして駆動するATP-binding cassette (ABC) トランスポーターと促進拡散や二次性能動輸送担体であるSolute carrier (SLC) トランスポーターに分類されるが、糖やアミノ酸などの栄養を細胞内へと移送するトランスポーターはSLCトランスポーターに属している。糖トランスポーターについては、多くの正常組織に存在するものが、がん細胞でその発現が高まっている。一方、アミノ酸トランスポーターについては、正常組織にも存在し、がん細胞での発現が高まっているものもあるが、がん細胞特異的に発現してくるものもあり、その阻害によるがん治療の新たな標的として期待される。

2. 研究の目的

がん細胞で発現上昇しているアミノ酸トランスポーターにはCystine/Glutamic acid transporter(xCT;SLC7A11)やL-type amino acid transporter1(LAT1;SLC7A5)、Alanine, serine, cysteine-preferring transporter 2(ASCT2;SLC1A5)、LAT3などがある。

LATファミリーのうちLAT1は正常細胞での発現は低く、腫瘍特異性が高いことが示されており、LAT1の高発現は非小細胞肺癌を含め多くのがんで予後不良因子であることが明らかとなっている。このためLAT1の気質であるチロシンをメチル化しフッ素を付加したL-3-F-methyl tyrosine(FAMT)を用いた¹⁸F-FAMTPETは、脳などの正常細胞でも取り込みが低いいため、¹⁸FDP-PETに変わる診断ツールとして期待されており、またLAT1を標的とした抗体治療も実用化に向けて動き出している。FAMT-PETが実用化されれば、将来的にLAT1抗体での治療効果のある症例の選択に用いることも期待される。またLAT1はASCT2と協調して働き、下流シグナルのmammalian target of rapamycin(mTOR)を活性化する。mTOR阻害剤は、LAT1抗体とmTOR阻害剤の併用療法の効果が確認できれば、がんに対する新たな分子標的治療の確立につながる可能性もあるため、この研究を行う。

3. 研究の方法

以下について主に肺がん細胞株を用いて行う

1) がん細胞におけるLAT1発現とASCT2発現の確認

アミノ酸トランスポーターの中で、LAT1に着目し、肺がん細胞株における蛋白発現と細胞増殖能の関連を確認する。また共駆動するASCT2蛋白発現との関連も確認する。

2) LAT1 抑制によるがん細胞増殖抑制効果

LAT1 抗体である JPH203 を用いて、肺がん細胞株における増殖抑制効果を調べる。さらに siRNA 導入による LAT1 の一時的な発現抑制も行い、増殖抑制効果を調べ、治療ターゲットになり得るかを検討する。

3) LAT1 下流シグナルの確認

LAT1 の下流シグナルである mTOR シグナル伝達経路の活性化状態について、LAT1 抗体である JPH203 曝露後の蛋白レベルでの変化について検討する。

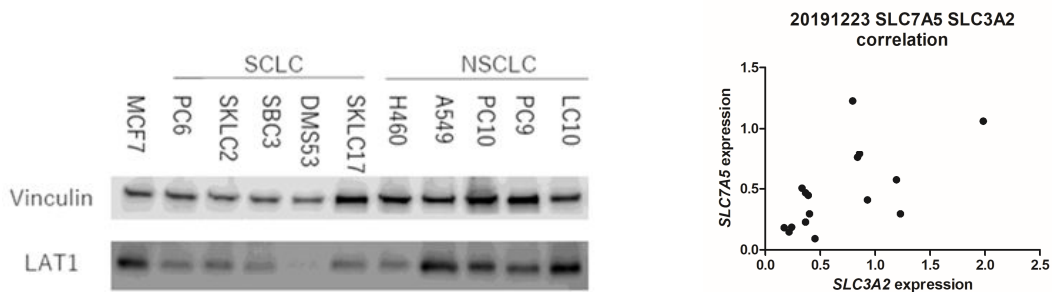
4) LAT1 抗体と mTOR 阻害剤、抗がん剤との併用効果

LAT1 抗体と抗癌剤、LAT1 抗体と mTOR 阻害剤との併用効果について基礎的検討を行う。

4. 研究成果

1) がん細胞における LAT1 発現と ASCT2 発現の確認

小細胞肺がん (SCLC) と非小細胞肺がん (NSCLC) 細胞株において LAT1 発現を、ウエスタンブロット (WB) 法を用いて確認を行った (Vinculin は内部コントロール、HepG2 細胞は陽性発現マーカーとして用いた)

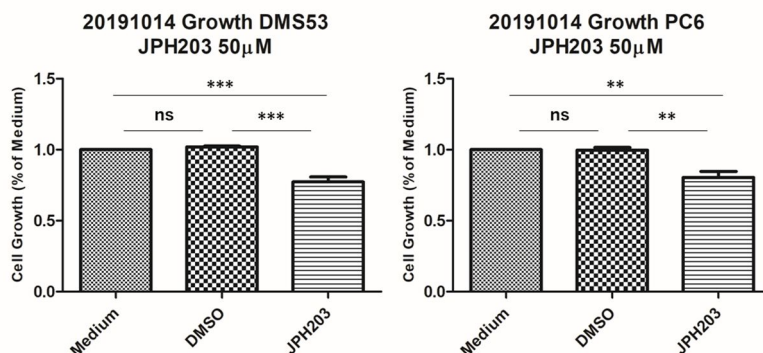


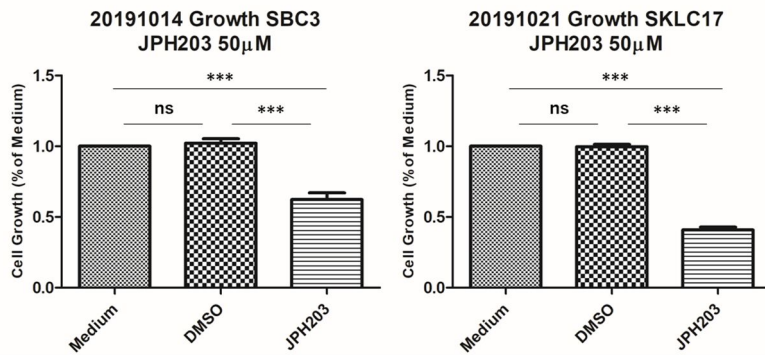
肺癌細胞株における LAT1 は細胞毎に発現に差を認めるが、全株で発現が確認できた。

一方共駆動する LAT1 (SLC7A5) と ASCT2 (SLC3A2) との相関を検討したところ、正の相関を認め ($P=0.0091$, $R=0.62$)、LAT1 と ASCT2 が共駆動していることが確認できた。

2) LAT1 抑制によるがん細胞増殖抑制効果

小細胞肺がん細胞株を用いて LAT1 抗体である JPH203 による増殖抑制効果を検討した。50 μ M の JPH203 存在下で 72 時間培養したのち、MTS アッセイによる生存細胞の確認を行った。

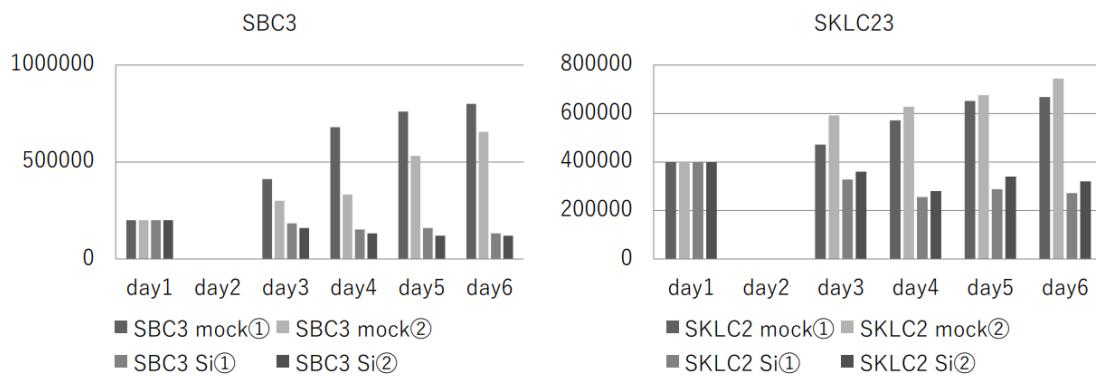




*:p<0.05, **:p<0.01, ***:p<0.001

DMS53、PC6、SBC3、SKLC17の小細胞肺癌細胞株すべてにおいてLAT1抗体であるJPH203による細胞増殖抑制効果を認めた。

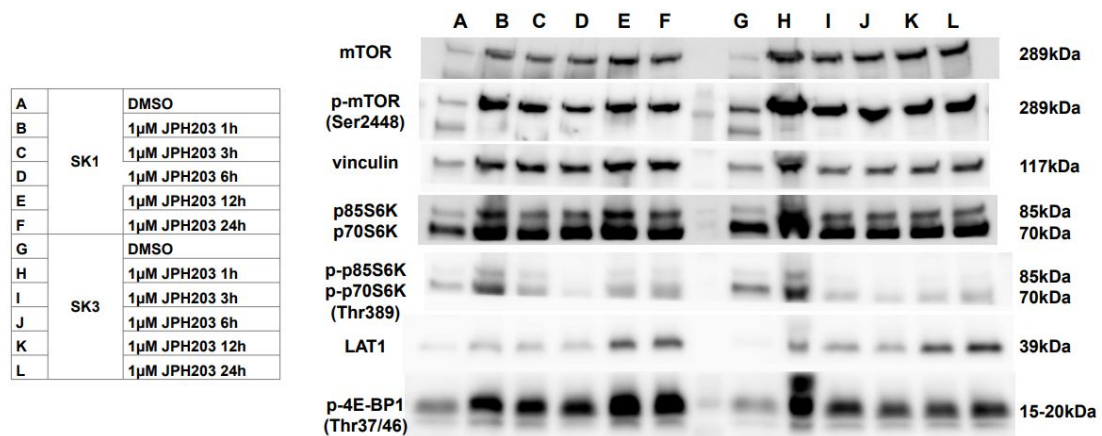
小細胞肺癌細胞株を用いて、LAT1に対するsiRNA導入によるLAT1の一時的な発現抑制をおこなった



複数のLAT1に対するsiRNA導入により、小細胞肺癌細胞株において細胞増殖抑制効果を認めた。

3) LAT1 下流シグナルの確認

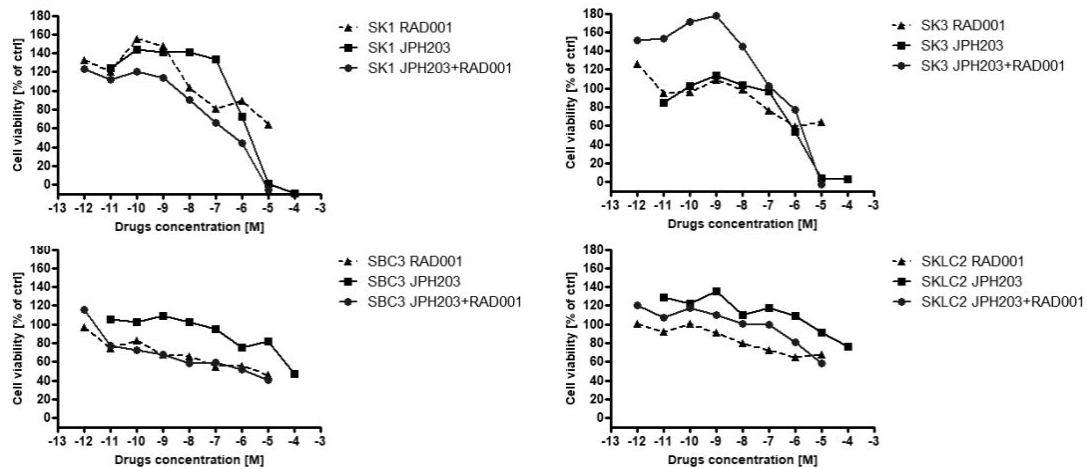
小細胞肺癌細胞株におけるLAT1阻害剤によるmTORシグナルの変化



どちらの小細胞肺癌細胞株においても、JPH203によりLAT1が阻害されると、mTORが活性化し、下流のp70S6K、4E-BP1のリン酸化が亢進した。長時間曝露ではLAT1発現が回復し、LAT1を阻害すると、mTOR経路からのフィードバックによりLAT1発現の再上昇が起こることが分かった。

4) LAT1 抗体と mTOR 阻害剤、抗がん剤との併用効果

小細胞肺癌細胞株において LAT1 阻害剤と mTOR 阻害剤を併用し、殺細胞効果を検討した。



小細胞肺癌細胞株における LAT1 阻害剤と mTOR 阻害剤の併用効果は一部の株で認められたものの、併用効果はあまり認められなかった。

一方 JPH203 抗体と、シスプラチンやアムルピシンなどの抗がん剤との併用効果も検討したが、やはり併用効果は認められなかった。

4 . 研究成果

アミノ酸はがん細胞の生存や増殖には必須であるため、がん細胞特異的に発現するアミノ酸とトランスポーターLAT1 の働きを抑えることにより、細胞増殖抑制効果を認め、がん治療ターゲットになる可能性は示唆された。しかしアミノ酸はがん細胞の生存や増殖に必須であるがゆえに、その抑制により mTOR 経路からのフィードバックシグナルにより LAT 発現の再上昇も認められた。一方期待した LAT1 抗体と mTOR 阻害剤、抗がん剤との併用効果は認められなかった。以上の結果より、アミノ酸トランスポーターLAT1 は、がん治療において標的の一つになり得るが、アミノ酸代謝リプログラミング因子のさらなる検討が必要で、さらにその治療薬や併用薬についても検討が必要であると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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	前野 健 (Maeno Ken) (10444952)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・准教授 (23903)	

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