

論文内容要旨

Selective Inhibition of L-type Amino Acid Transporter 1 Suppresses Cell Proliferation in Ovarian Clear Cell Carcinoma

(L型アミノ酸トランスポーター 1 の選択的阻害は卵巣明細胞癌の細胞増殖を抑制する)

Anticancer Research, 2023, in press.

主指導教員：工藤 美樹 教授

(医系科学研究科 産科婦人科学)

副指導教員：有廣 光司 教授

(広島大学病院 病理診断学)

副指導教員：川上 秀史 教授

(原爆放射線医科学研究所 分子疫学)

関根 仁樹

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

要旨

【背景と目的】

上皮性卵巣癌の代表的な組織型の一つである明細胞癌は、化学療法に抵抗性で、特に予後が不良である。また、欧米と異なり本邦では頻度の高い組織型であることも特徴的であり、卵巣明細胞癌に対する新規治療戦略の開発は重要な課題となっている。

一般的に、癌細胞は急速な増殖と細胞内代謝の亢進を維持するために、正常細胞よりも多くの栄養を外部から取り込む必要があり、糖やアミノ酸を細胞内に取り込むトランスポーターの発現が増加している。近年注目されている L 型アミノ酸トランスポーター 1 (L-type amino acid transporter 1: LAT1) は、いくつかの癌種で発現の増加を認め、LAT1 を介して細胞内へロイシンを取り込むことで mammalian target of rapamycin (mTOR) シグナル経路が活性化し、細胞増殖を促進することが報告されている。LAT1 の発現と予後が相関し、LAT1 を特異的に阻害することで腫瘍増殖を抑制する可能性が報告されており、抗腫瘍効果が期待されている。しかし、卵巣明細胞癌において LAT1 の発現と細胞増殖の関連についての報告はなく、LAT1 選択的阻害による抗腫瘍効果の検討もされていない。

本研究では、卵巣明細胞癌細胞株における LAT1 の発現と、その選択的阻害による細胞増殖への影響や mTOR シグナル経路の活性化について解析し、臨床検体を用いて LAT1 の発現と予後との相関関係についても検討した。

【方法】

卵巣明細胞癌細胞株を用いて、LAT1 タンパクの発現を western blot 法により確認した。さらに LAT1 によるロイシンの細胞内取り込みを解析するために、LAT1 選択的阻害剤である nanvuranlat を添加し、 $[^3\text{H}]$ Leucine の細胞内取り込み抑制効果をシンチレーションカウンターにて観察した。次に LAT1 の発現がある卵巣明細胞癌細胞株に対して nanvuranlat (1, 2, 5, 10, 20 μM) を添加した状態で培養し、IncuCyte[®] zoom を用いて細胞増殖への影響を 72時間観察した。また細胞増殖に関与する mTOR シグナル経路 (mTOR, 4EBP1, ribosomeS6) の動態についても western blot 法にて確認した。上皮性卵巣癌の組織検体 86例に対して、免疫組織化学染色法で LAT1 の発現を確認し、無増悪生存期間との相関関係について Kaplan-Meier 法を用いて検討した。

【結果】

3つの卵巣明細胞癌細胞株 (JHOC9, JHOC5, RMG-1) のうち、JHOC9 は LAT1 タンパクの発現が最も高く、JHOC5 では低発現であった。JHOC9 と JHOC5 において、nanvuranlat 添加により濃度依存的に [³H] Leucine の細胞内への取り込みが阻害され、その阻害効果は JHOC5 (IC₅₀値 : 0.634 μM) に比較して JHOC9 (IC₅₀値 : 0.108 μM) でより強く認めた。これは、LAT1 の発現が高い細胞で nanvuranlat によるロイシンの取り込み阻害効果が強いと考えられた。また、JHOC9 では nanvuranlat の添加により細胞増殖も濃度依存的に阻害され、添加 24時間での IC₅₀値が 2.1 μM であった。他のがん腫 (IC₅₀値 : 3~41.7 μM) での報告と比べて高い阻害効果を認めた。さらに細胞増殖に関与している mTOR シグナル経路では、nanvuranlat (10 μM) を添加後 24時間で mTOR および ribosomeS6 タンパクのリン酸化が著明に抑制された。

上皮性卵巣癌 86例において、免疫組織化学染色法による LAT1 の陽性率は 22% (19/86例) で、組織型別では漿液性癌 14% (5/37例)、明細胞癌 35% (11/31例)、類内膜癌 20% (2/10例)、粘液性癌 13% (1/8例) であり、明細胞癌が最も頻度が高かった。明細胞癌 31例において、LAT1 陽性群の無増悪生存期間は LAT1 陰性群に比べ有意に短かった (HR=4.15, 95%CI=1.20-14.35, $p=0.0123$)。

【結論】

卵巣明細胞癌では LAT1 が高発現しており、LAT1 を選択的に阻害することによりロイシンの取り込みが阻害され、mTOR シグナル経路を介して細胞増殖が抑制されることが示唆された。したがって、LAT1 選択的阻害剤によって卵巣明細胞癌の予後が改善する可能性がある。さらに LAT1 の臨床的意義や細胞増殖抑制のメカニズムを解明することで、バイオマーカーとしての可能性や LAT1 選択的阻害剤を含めた新規治療戦略の開発が期待される。