

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（医学）	氏名	関根 仁樹
学位授与の条件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論文題目 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)			
論文審査担当者			
主査	教授	酒井 規雄	印
審査委員	教授	日向 信之	
審査委員	准教授	笹谷 めぐみ	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>卵巣癌は代表的な婦人科悪性腫瘍の中で最も予後不良の疾患である。卵巣癌の治療として手術療法と薬物療法の集学的治療が行われるが、再発を繰り返しやすく薬物療法抵抗性を獲得することが多い。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本邦に多く、特に薬物療法に対する奏効率が低く、予後不良である。しかし、卵巣癌における多くの臨床試験が頻度の高い漿液性癌を対象としており、明細胞癌に対する治療開発が進んでいない。そのため、卵巣明細胞癌に対する新規治療戦略の開発が求められている。</p> <p>本研究では、癌細胞で発現が亢進しているアミノ酸トランスポーターのうち、L-type amino acid transporter 1 (LAT1) に着目した。LAT1 は多くの癌で発現の上昇を認め、予後との相関が報告されている。その機序の一つとして、発現が上昇した LAT1 によりロイシンの細胞内への取り込みが亢進することで、腫瘍増殖に関わる mammalian target of rapamycin (mTOR) 経路が活性化することが報告されている。近年、LAT1 選択的阻害剤として nanvuranlat (JPH203) が開発され、いくつかの癌に対して有効性が示されている。しかし、卵巣癌における LAT1 選択的阻害剤の抗腫瘍効果や mTOR 経路の関与についての報告はない。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 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。</p> <p>まず、上皮性卵巣癌の臨床検体 86 例に対して、免疫組織化学染色を用いて、LAT1 の発現を確認した。結果は、明細胞癌において LAT1 の陽性率が 35% (11/31 例) と最も高く、漿液性癌の陽性率 14% (5/37 例) と比較して有意に高かった。明細胞癌 31 例において、LAT1 の発現と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ところ、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, $p = 0.0123$)。</p> <p>次に、3 つの卵巣明細胞癌細胞株 (JHOC9, JHOC5, RMG-1) を用いて、LAT1 タンパクの発現を Western blot 法にて確認したところ、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 におけるロイシン輸送について、$[^3\text{H}]$ leucine とシンチレーションカウンターを用いて検討した。結果は、LAT1 選択的阻害剤である nanvuranlat により、濃度依存的に leucine の細胞内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可能性が考えられた。さらに、JHOC9 における細胞増殖をライブセル解析システムである IncuCyteZOOM® を用いて確認すると、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。また、細胞増殖に</p>			

関与する mTOR 経路 (mTOR, 4EBP1, ribosomeS6) の動態についても Western blot 法にて確認した。Nanvuranlat の添加により LAT1 タンパクの発現に変化を認めなかったが、mTOR と ribosomeS6 タンパクのリン酸化が時間経過とともに抑制された。

本研究では、卵巣明細胞癌において 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 経路を介して細胞増殖が抑制されることが示唆された。また、LAT1 の発現と無増悪生存期間が相関しており、バイオマーカーとなる可能性が考えられる。

以上の結果から本論文は、卵巣明細胞癌に対して LAT1 を選択的に阻害することによる細胞増殖抑制効果を示したことで、LAT1 選択的阻害剤が卵巣明細胞癌の新規治療薬の候補となる可能性が期待される点で高く評価される。

よって審査委員会委員全員は、本論文が関根仁樹に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。