

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	大谷 里奈
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項 2 項該当		
論文題目 The Anti-Tumor Effect of the Newly Developed LAT1 Inhibitor JPH203 in Colorectal Carcinoma, According to a Comprehensive Analysis (大腸癌における新規 LAT1 阻害剤 JPH203 の包括的解析による抗腫瘍効果)			
論文審査担当者			
主査	教授	檜井 孝夫	印
審査委員	教授	岡本 渉	
審査委員	講師	仙谷 和弘	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>【背景】 腫瘍の増殖・浸潤・転移に関して、癌細胞そのものだけでなく、その周囲に存在する腫瘍間質との相互作用が重要と言われている。既報のごとく我々は大腸癌細胞株と間葉系幹細胞をマウス回盲部に同所共移植することで、癌細胞で上皮系から間葉系のフェノタイプに変化する上皮間葉系転換が生じ、高転移能を有す間質豊富な腫瘍が形成されることを示すと共に、癌と間質の相互作用阻害による腫瘍進展抑制作用を示してきた。アミノ酸トランスポーターである Large neutral amino acid transporter (LAT) は、人体維持に必須の必須アミノ酸を細胞内に取り込む役割を担う。LAT family のうち、LAT1 は、複数の癌腫での腫瘍特異的な発現や予後との関連が報告され、腫瘍特異的に発現する LAT1 を阻害することにより、正常細胞への影響を最小限に、腫瘍特異的にアミノ酸取り込みを低下させ、飢餓に至らしめ、腫瘍進展を抑制する効果が期待されている。これまで臨床検体での免疫染色等で、LAT1 は、mTOR pathway を介した癌細胞の増殖促進作用や血管新生促進作用を有することが報告されている。近年、網羅的解析で LAT1 の発現が間葉系フェノタイプの維持に必須であることや、腫瘍免疫への関与が報告されているが、in vitro ベースの検討である。上皮間葉系転換に伴う間質活性化や腫瘍免疫に及ぼす影響の本質的理解のためにはそれらが存在する in vivo での評価が望ましいと考えられるが詳細な報告はない。また、LAT 阻害剤として従来、汎 LAT 阻害剤 (LAT1-4 を標的) である BCH が用いられてきたが、近年 LAT1 特異的阻害剤である JPH203 が開発され、腫瘍特異的作用が期待されている。</p>			
<p>【目的】 大腸癌において LAT1 の発現と臨床病理学的特徴との関係を解明し、新規の LAT1 特異的阻害剤である JPH203 の抗腫瘍効果を評価し、腫瘍微小環境に着目し、その作用機序を解明する。</p>			
<p>【実験デザイン】 UCSC Xena を用い、データベースでの LAT family 遺伝子発現を解析し、さらにヒト大腸癌臨床検体を用い、免疫染色による LAT1 発現と臨床病理学的特徴との関連を評価した。ヒトおよびマウス由来の 10 種の大腸癌細胞株に関して、LAT1 発現量を real-time PCR にて評価した。さらに time-lapse assay system を用いて 6 種類の細胞株で JPH203 が細胞増殖能に与える影響を評価した。次にマウス由来大腸癌細胞株 CT26 と間葉系幹細胞 (MSC) を Balb/c マウスの回盲部に同所移植し、同系免疫応答で、間質豊富な大腸癌マウスモデルを作成し JPH203 による治療実験を行った。マウス腫瘍組織由来 RNA を用いた網羅的遺伝子発現解析により抗腫瘍効果を評価し、マウス腫瘍、臨床検体、in vitro での validation を行った。</p>			

【結果】

データベース解析では、LAT1 は正常組織中と比べ大腸癌組織で有意に高発現していた。さらに LAT1 は遠隔転移巣組織、再発腫瘍組織、原発腫瘍組織、正常組織の順に多く発現を認めた。ヒト大腸癌臨床検体での免疫組織学的検討では 106/154 例 (68.8%) で大腸癌組織中に LAT1 の高発現を認めた。LAT1 発現は腫瘍特異的で、その発現は腫瘍の staging と相関していた。

大腸癌細胞株を用いた JPH203 による増殖阻害試験では、LAT1 の一定以上の発現がある細胞株では、JPH203 の濃度依存性に細胞増殖抑制作用を示した。

マウス同所移植モデルにおいて、JPH203 による治療群では、腫瘍重量・体積、リンパ節転移の有意な抑制を認めた。RNA シークエンスに基づく KEGG パスウェイ解析の結果、がん増殖関連やアミノ酸代謝のみならず、間質関連のパスウェイを抑制していた。

続いて、この腫瘍間質への抑制作用について validation を行った。マウス腫瘍の HE 染色でコントロール群は間質反応が豊富であり、JPH203 による治療群では細胞形態に heterogeneity は乏しく、上皮系のフェノタイプを保っていた。さらに上皮系マーカーである E-カドヘリンと間葉系マーカーである vimentin の蛍光二重免疫染色では、コントロール群では間葉系組織が豊富であり、治療群では乏しく、腫瘍細胞は上皮系のフェノタイプを保っていた。また臨床検体においても LAT1 発現と、vimentin により定量化された腫瘍間質量との間に、強い正の相関 (相関係数 0.714) を認めた。In vitro でも、癌細胞と MSC の共培養アッセイにて、JPH203 は CT26 の増殖のみならず MSC の増殖も抑制することを確認した。

【結論】

大腸癌において LAT1 阻害剤 JPH203 は、増殖経路やアミノ酸代謝だけでなく、腫瘍間質反応も抑制し、腫瘍の進展を阻害する。

以上の結果から、本論文は大腸癌における LAT1 阻害剤 JPH203 の腫瘍特異的作用を示した。よって審査委員会委員全員は、本論文が大谷 里奈に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。