

腫瘍細胞におけるアミノ酸トランスポーターの発現量と  
腫瘍診断用標識アミノ酸の細胞集積量の比較  
荒木 宏予

要 旨

私の所属する研究室では 2-<sup>18</sup>F-fluoro-2-deoxy-D-glucose (<sup>18</sup>F-FDG) に替わる放射性腫瘍診断薬として人工アミノ酸に着目してきた。その代表としてチロシン誘導体の 3-<sup>123</sup>I-iodo- $\alpha$ -methyl-L-tyrosine (<sup>123</sup>I-IMT) があり、細胞を用いた輸送実験によりアミノ酸トランスポーターを介した輸送経路が明らかになっている。同じく、天然アミノ酸 alanine の 2 位とアミノ基をメチル化した  $\alpha$ -[N-methyl-<sup>11</sup>C]-methylaminoisobutyric acid (<sup>11</sup>C-MeAIB) が既に臨床実験に入っているなど、腫瘍診断用標識アミノ酸に対する期待が高まっている。近年、これらの標識アミノ酸や <sup>18</sup>F-FDG を輸送するトランスポーターの発現量と細胞集積量との相関性を検討した研究報告が増えてきたことから、腫瘍細胞のアミノ酸トランスポーターの発現傾向を明らかにすることで、開発された腫瘍診断用標識アミノ酸がどのような腫瘍細胞に適応しているかを判断する基準にできないかと考えた。

本研究では、腫瘍診断用標識アミノ酸として既に臨床使用されている [S-methyl-<sup>3</sup>H]-L-<sup>3</sup>H-methionine (<sup>3</sup>H-Met) と <sup>14</sup>C-MeAIB に注目し、これらの輸送に関与する中性アミノ酸トランスポーターの発現量を解析した。9 種類の腫瘍細胞とヒト正常膵臓組織 (pancreas) 由来の total RNA をバイオアナライザーにより品質評価し、DNA マイクロアレイによる遺伝子解析を行った。次に、発現を確認した中性アミノ酸トランスポーターの system A、system ASC、system y<sup>+</sup>L、system L のアイソフォームおよび輸送活性化因子 4F2hc について、real-time RT-PCR (PCR) 法を用いて mRNA 発現量の相対定量を行った。PCR で測定した mRNA 発現量の比較をもとに、<sup>3</sup>H-Met と <sup>14</sup>C-MeAIB の輸送に関与する system L と system A の発現量を腫瘍細胞ごとに分類し、腫瘍細胞 5 種において <sup>3</sup>H-Met と <sup>14</sup>C-MeAIB の腫瘍細胞に対する集積量と mRNA 発現量との相関について検討した。同時に、特異的阻害剤による輸送阻害実験、Na<sup>+</sup>依存性実験を行い、system L と system A 以外のアミノ酸トランスポーターの関与についても検討した。

マイクロアレイによる遺伝子解析および PCR の結果、system L のアイソフォームである LAT1 の mRNA 発現量が最も高い傾向を示した。一方、system A の mRNA 発現量は system L よりも低かったが、各輸送系の mRNA 総発現量が腫瘍細胞間で異なっていたことから、mRNA 発現量に基づいた分類を行った。細胞集積実験、輸送阻害実験、Na<sup>+</sup>依存性実験において、<sup>3</sup>H-Met の主要な輸送経路が system L であり、system A 以外の Na<sup>+</sup>依存性のトランスポーターが輸送に関与していることが示された。また、<sup>14</sup>C-MeAIB の主要な輸送経路が system A であり、<sup>3</sup>H-Met 同様 system A 以外の Na<sup>+</sup>依存性トランスポーターによる輸送が確認された。標識アミノ酸の細胞集積量から、system L による <sup>3</sup>H-Met 輸送の寄与および、system A による <sup>14</sup>C-MeAIB 輸送の寄与を導き出し、PCR による各輸送系の mRNA 総発現量と比較したところ、system L においては一定の関連が見出されたが、全体的な相関性を表すことはできなかった。一方、system A においては A431、LS180、PC14 で相関性が認められたものの、MDA-MB435 と H441 では相関性が見られなかった。

PCR による相対定量値は目的の中性アミノ酸トランスポーターの遺伝子のみを増幅し検出しているが、生きた腫瘍細胞では目的とするアミノ酸トランスポーター以外に輸送に関与するトランスポーターが存在することや、細胞自身の代謝反応が影響するため単純に評価することは難しい。だが、一部であっても腫瘍診断用標識アミノ酸の腫瘍細胞への集積と中性アミノ酸トランスポーターの mRNA 発現量に相関性が見られたことから、広範なアミノ酸トランスポーター解析によりこれらの課題を克服できると考える。解析手法を統一し、腫瘍診断用標識アミノ酸の集積性と輸送系の mRNA 発現量の関連性をデータベース化することで、母体骨格のアミノ酸の選択やイメージング剤の輸送経路の予測が可能になれば、標識アミノ酸の開発研究はより発展すると思われる。