

アミノ酸輸送系 system ASC 輸送寄与評価のためのスクリーニング系の開発 坂下 真俊

要 旨

ポスト FDG 腫瘍診断薬として、腫瘍細胞のアミノ酸代謝機能亢進を利用した腫瘍診断薬の開発が期待されている。アミノ酸は腫瘍に高集積を示すが、これはアミノ酸トランスポーターが高発現しているためである。我々の研究グループではこれまでに、主に腫瘍で発現が亢進する Na⁺依存性の system A, Na⁺非依存性の system L に対する特異的阻害剤を用いて、それぞれの輸送系の寄与を評価してきた。しかし、近年では多数存在するアミノ酸輸送系 (AAT) の中でも特に腫瘍で高発現している癌関連アミノ酸輸送系 (癌関連 AAT) が報告されている。そこで、本研究では特定の癌関連 AAT の基質として特異的に腫瘍へ集積するアミノ酸腫瘍診断薬の開発を実現するために、system A, system L を含む癌関連 AAT の寄与を細分化して評価する新たな輸送系評価法を構築することを目的とした。

特定のアミノ酸の細胞集積量に対する個々の輸送系で輸送されるアミノ酸の集積量の割合を寄与率とし、現在報告されている癌関連 AAT の寄与率を別々に評価する新規輸送系評価法を考案した。従来法では system A, system L の特異的阻害剤を用いた競合阻害実験により評価を行ってきたが、新規評価法ではそれ以外の癌関連 AAT を中心とした特異的阻害剤や高親和性基質を組み合わせた競合阻害実験を試みた。癌関連 AAT の中で system ASC と system L の発現量は、腫瘍の進行及び予後と相関が深いことから、アミノ酸腫瘍診断薬の開発に非常に重要な輸送系である。しかし、system ASC に対する特異的阻害剤が存在しないことから、その評価は困難とされてきた。そこで本評価法では、特に system ASC の輸送寄与を確認するために、輸送系の pH 依存性を評価基準の一つとして応用した。本研究で使用する腫瘍細胞は、マイクロアレイを用いて 9 種類のヒト由来腫瘍細胞におけるアミノ酸トランスポーター遺伝子を網羅的に解析し、その発現パターンから、system ASC 高発現細胞として肺腺癌細胞 H441 を選択した。

H441 を用いた細胞集積実験では、従来法で評価してきた AAT に加えて、system A 及び IMINO の和、system B⁰⁺及び B⁰の和、system ASC, system PAT の寄与率をそれぞれ細分化して算出した。この評価法を標識天然アミノ酸の細胞集積に応用した結果、[¹⁴C(U)]-L-alanine (¹⁴C-Ala) 及び [¹⁴C(U)]-L-serine (¹⁴C-Ser) の輸送には system ASC が、[methyl-¹⁴C]-L-methionine (¹⁴C-Met) 及び [¹⁴C(U)]-L-tyrosine (¹⁴C-Tyr) の輸送には主に system L が主要な輸送系であることが競合阻害実験及び pH 依存的集積実験の両方で確認することができた。今回得られた輸送系の寄与率はマイクロアレイの遺伝子解析結果と相関していたため、細胞への取り込みに寄与する AAT の評価には、本評価法が有効であることが示された。

次に、F-18 2-fluoro-2-deoxy-D-glucose (¹⁸F-FDG) の腫瘍検査において、生理的高集積が問題となる脳腫瘍細胞 T98G 及び前立腺癌細胞 DU145 を用いて、本評価法による AAT 評価を行った。標識天然アミノ酸の細胞集積に対する競合阻害実験では、従来の評価法でも算出可能な AAT に加えて、system A 及び IMINO の和、system B⁰⁺及び B⁰の和、system ASC, system

PAT の寄与を算出することができた。また、pH 依存的集積実験において system B⁰に加えて癌関連 AAT である system A, system ASC 及び system L の寄与を確認した。一般に本研究で使用した天然アミノ酸は、多くの AAT で輸送されていることが知られているが、特に腫瘍細胞への取り込みには、主に癌関連 AAT の寄与が大きいことが本評価法により明らかとなった。また、細胞間においては標識アミノ酸の取り込みに寄与する AAT に大きな相違は見られなかったが、標識アミノ酸が異なれば取り込みに寄与する AAT も異なることが分かった。

以上のことから、従来法をもとに本研究で考案した新規 AAT 評価法を用いることで、腫瘍での高発現が確認されている癌関連 AAT の寄与をより細分化して個別に評価し、標識アミノ酸の特性を明らかにすることができることから、ポスト FDG 腫瘍診断薬として癌関連 AAT によって特異的に腫瘍に高集積を示すアミノ酸腫瘍診断薬開発に貢献できる可能性が示された。