

がん関連アミノ酸輸送系 system Xc⁻ を標的とした in vitro 評価系の確立

稲川 耕平

要 旨

アミノ酸輸送系は腫瘍細胞に高発現しているため、アミノ酸は腫瘍細胞に高集積を示す。現在、このアミノ酸の特徴を利用し、post-FDG 薬剤としてがん関連アミノ酸輸送系を標的とした画像診断薬開発が進められている。我々の研究グループはこれまでに腫瘍細胞で高発現している system L や system A などのがん関連アミノ酸輸送系を利用した post-FDG 薬剤の開発を目的として、標識アミノ酸の腫瘍細胞集積に対するがん関連アミノ酸輸送系の寄与を評価してきた。近年、治療抵抗性との相関が報告されている Na⁺非依存性アミノ酸輸送系 system Xc⁻ のイメージングの重要性が高まっているものの、system Xc⁻ を特異的に評価する方法は未だに確立されていない。本研究では、アミノ酸画像診断薬の細胞集積における system Xc⁻ の寄与を評価するため、system Xc⁻ と同じ Na⁺非依存性のがん関連アミノ酸輸送系である system L との寄与を区別する in vitro 評価系の確立を目指した。標識アミノ酸には Na⁺非依存性の system L の寄与が大きい 3-[¹²⁵I]-L-tyrosine (L-MIT)、その光学異性体である D-MIT と system Xc⁻ の輸送基質である CySS の ¹⁴C 標識体 ¹⁴C-CySS を選択した。L-MIT, D-MIT の標識には、直接酸化法である chloramin-T 法を選択し、標識率は 60~90%、放射化学的純度 95%以上で得られた。

本検討では、system Xc⁻ の特異的評価を目指し、system Xc⁻ 発現量の異なる 2 種類の細胞 (A549, SK-MEL-28) を用いて、経時的細胞集積実験を行うとともに、system L 特異的阻害剤 2-amino-bicyclo[2,2,1]heptane-2-carboxylic acid (BCH) 及び system Xc⁻ の基質である sulfasalazine (SSZ), L-cystine (CySS), L-glutamic acid (Glu) を用いた競合阻害実験を行い system Xc⁻ の評価を試みた。また、両細胞の遺伝子発現解析を行い、system Xc⁻ 及び system L アミノ酸トランスポーターの発現量も定量した。

遺伝子解析の結果、system Xc⁻ の発現量は SK-MEL-28 に比べ、A549 では約 6 倍高かった。次に L-MIT, D-MIT の各腫瘍細胞への経時的集積量を評価した結果、system Xc⁻ 高発

現細胞である A549 への両標識アミノ酸の集積は、低発現細胞である SK-MEL-28 より高い傾向を示した。さらに、L-MIT は D-MIT より集積量が高くなったが、天然アミノ酸と同じ L 体であるため、アミノ酸輸送系への親和性が高く、より取込まれやすいのではないかと考えた。次に、標識アミノ酸の輸送寄与を評価した結果、BCH による顕著な阻害効果が確認され、system L の関与が示された。また、Glu による阻害効果は BCH と同程度であったのに対し、SSZ, CySS による阻害効果はわずかであった。SSZ と CySS は system L への関与が少なく system Xc⁻ の寄与を評価できる可能性があると考えた。

System Xc⁻ の輸送基質である CySS²⁰ の system Xc⁻ 高発現細胞 A549 のへ集積には system L への関与が少ない可能性が示唆されたことから、system Xc⁻ の輸送基質である CySS の ¹⁴C 標識体、¹⁴C-CySS での集積阻害実験では、BCH による集積阻害がわずかであり、system L の関与が少ないことが示された。更に SSZ, CySS による阻害効果が有意に見られた。したがって、本検討における BCH の結果から system L の阻害はないと確認されており、SSZ, CySS は system Xc⁻ を阻害していると考えられる。

以上のことから、本研究では、がん関連アミノ酸輸送系の system Xc⁻ に着目し、BCH と SSZ または CySS を組み合わせることによる in vitro 評価系の有用性が示され、がん関連アミノ酸輸送系 system Xc⁻ を標的とする新たなイメージング薬剤開発の可能性が見いだされた。