

| | |
|--------------|---|
| Title | Pharmacologic inhibition of LAT1 predominantly suppresses transport of large neutral amino acids and downregulates global translation in cancer cells |
| Author(s) | 西窪, 航 |
| Citation | 大阪大学, 2024, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/96263 |
| rights | |
| Note | やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。 |

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論 文 内 容 の 要 旨
Synopsis of Thesis

| | |
|--|---|
| 氏 名 Name | 西 窪 航 |
| 論文題名 Title | Pharmacologic inhibition of LAT1 predominantly suppresses transport of large neutral amino acids and downregulates global translation in cancer cells (LAT1の薬理的阻害はがん細胞における大型中性アミノ酸の輸送を大幅に抑制し翻訳を全般的に下方制御する) |
| 論文内容の要旨 | |
| 〔目的(Purpose)〕 | |
| <p>がん細胞は、活発な細胞増殖を維持するために、正常細胞と比べて多くの栄養素を取込む。そのため、栄養素の取込みを担う膜輸送タンパク質（トランスポーター）は、がんの有効な治療薬の標的になりうる。なかでも、がん細胞と正常細胞で発現が異なるアミノ酸トランスポーターは、創薬ターゲットとして有望である。ヒトでは約60種類のアミノ酸トランスポーターが同定されており、特にL-type amino acid transporter 1（LAT1; SLC7A5）は、腫瘍選択性が高く、様々な腫瘍組織で発現が上昇している。LAT1は必須アミノ酸の多く（7種類）を含む8種類の大型中性アミノ酸（メチオニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、フェニルアラニン、チロシン、トリプトファン、ヒスチジン）を主な輸送基質とする。アミノ酸は、栄養素としてタンパク質合成をはじめとする様々な生化学反応の基質となると同時に、それ自身がシグナル分子として多様な代謝・合成制御に関与し、がん細胞の生存、成長、増殖を支えている。実際にLAT1阻害薬は、<i>in vitro</i>および<i>in vivo</i>での顕著な細胞増殖抑制作用と腫瘍増大抑制作用を示す。LAT1の高親和性阻害薬であるJPH203（Nanvuranlat）については、抗悪性腫瘍薬としての臨床試験も実施されている。しかし、その抗腫瘍作用の基盤となる、各輸送基質アミノ酸の取込みや、翻訳活性に与える影響は未だ十分に解明されていない。従来の研究では、がん細胞に対するLAT1阻害薬のアミノ酸輸送阻害効果は、輸送基質のひとつであるロイシンを用いて評価されてきた。また、LAT1阻害薬のタンパク質合成への影響については、翻訳制御に関与するアミノ酸関連シグナル経路上の因子のリン酸化変動を指標とした間接的な手法により検証されてきた。そこで本研究は、新規がん治療法の実現に向けてLAT1阻害薬の薬理作用をより詳細に明らかにすることを目的とし、がん細胞においてJPH203の輸送阻害効果を全輸送基質について検討するとともに、タンパク質合成活性の低下の実証を試みた。</p> | |
| 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 | |
| <p>がん細胞へのアミノ酸の取込みは、放射性同位体¹⁴Cで標識されたアミノ酸を輸送基質に用い、取り込まれたアミノ酸由来の放射能を液体シンチレーターで測定することで評価した。ヒト膵臓がん細胞株HPAC、MIA PaCa-2、PANC-1、SUIT-2細胞を用いて、LAT1の輸送基質である8種類の大型中性アミノ酸それぞれに対する、JPH203の取込み阻害効果を検討した。LAT1は、アミノ酸輸送の共基質としてNa⁺を必要としないNa⁺非依存的トランスポーターである。Na⁺非存在下において、JPH203はすべての大型中性アミノ酸の取込みを著しく抑制した（30 μM JPH203で90%以上の阻害効果）。さらに、Na⁺依存的アミノ酸トランスポーターが機能しうる125 mM Na⁺存在下においても、JPH203による大型中性アミノ酸の取込み抑制効果はNa⁺非存在下と同様に極めて顕著であった。また、JPH203の阻害作用は、高濃度のアミノ酸が含まれている細胞培養液中においても確認された。以上より、がん細胞の大型中性アミノ酸の取込みが、LAT1に大きく依存していることが示された。タンパク質合成活性は、チロシルtRNAに類似した構造をもつピューロマイシンの新規合成タンパク質への取込みを解析するSUnSET法と、密度勾配遠心によってmRNAとリボソームの結合状態を評価するポリソーム解析を用いて評価した。その結果、JPH203を細胞に処理することで、新規合成タンパク質へのピューロマイシンの取込みが低下する傾向がみられ、翻訳が活発なリボソームとmRNAの複合体であるポリソーム量の減少が見られた。以上の結果より、LAT1の阻害によるアミノ酸の取込みの抑制は、がん細胞におけるタンパク質合成活性を全般的に低下させることが示された。</p> | |
| 〔総括(Conclusion)〕 | |
| <p>JPH203のがん細胞増殖抑制の背景にある、大型中性アミノ酸の取込みに対するLAT1の主要な寄与と、LAT1の阻害がもたらす全般的なタンパク質合成活性の抑制を実証した。これは、がん治療薬の標的としてのLAT1の重要性と妥当性の確立に貢献するものである。また本研究の成果は、今後、ロイシン以外の大型中性アミノ酸にも着目して、より詳細なLAT1阻害薬の薬理作用の解明を進めるうえで重要な基盤情報を与えるものである。</p> | |

論文審査の結果の要旨及び担当者

| | |
|---------------|-------------------------------|
| (申請者氏名) 西 窪 航 | |
| 論文審査担当者 | (職) 氏 名 主 査 大阪大学教授 金 井 好 克 |
| | 副 査 大阪大学教授 日 比 野 浩 |
| | 副 査 大阪大学教授 下 村 伊 一 郎 |

論文審査の結果の要旨

アミノ酸トランスポーターLAT1は、必須アミノ酸を含む大型中性アミノ酸を選択的基質とする膜輸送体であり、多くの腫瘍組織で発現が亢進している。LAT1阻害薬JPH203 (nanvuranlat) は、腫瘍細胞へのアミノ酸取込みの遮断を機序とした、新たな抗悪性腫瘍薬として開発された。JPH203の抗腫瘍効果は、既に様々な前臨床モデルにおいて実証されている。胆道がんを対象にした初の第II相臨床試験は、主要評価項目を達成し、臨床での有用性も確認されつつある。しかし先行研究では、LAT1に対するJPH203の阻害効果は主にロイシンの輸送についてのみしか検証されてこなかった。申請者は、膵臓がん細胞株を用いて、すべての大型中性アミノ酸の輸送活性に対する、JPH203の著明な阻害効果を明らかにした。また、LAT1の阻害が、腫瘍細胞の翻訳活性を全般的に抑制することを実証した。JPH203の抗腫瘍効果の基盤となる薬理作用の理解を進展させ、今後の臨床開発や新たなLAT1阻害薬の創製、さらには腫瘍細胞の病態特異的なアミノ酸利用の解明にも寄与するものとして、学位に値すると考える。