

氏名	猿田真庸
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲第1328号
学位授与の日付	2023年3月12日
学位論文題名	Alanine-Serine-Cysteine Transporter 2 Inhibition Suppresses Prostate Cancer Cell Growth In Vitro 「ASCT2阻害は前立腺癌細胞の増殖を抑制する」 Journal of Clinical Medicine. 2022;11:5466
指導教授	白木良一
論文審査委員	主査 教授 今泉和良 副査 教授 下野洋平 教授 喜島祐子

## 論文内容の要旨

### 【緒言】

ASCT2(Alanine-serine-cysteine transporter 2)は、アラニン、セリン、システイン、グルタミン等の中性アミノ酸の細胞内取り込みに関与する Na<sup>+</sup> 依存性トランスポーターであり、癌細胞においては、グルタミンを取り込む重要な役割を担っている。また、癌細胞ではその発現が上昇していることが報告されており、前立腺癌でも関連性は検討されているが明確なメカニズムについては解明されていない。本研究に先駆け、cBioPortalを用いて、前立腺癌患者108例で腫瘍組織内のASCT2発現レベルと前立腺癌の生化学的再発までの期間を検討したところ、グリソンスコア7以上のASCT2高発現群で再発までの期間が有意に短いことが示され、ASCT2発現と前立腺癌の病勢進行に何らかの関連性が示唆された。

### 【目的】

去勢感受性前立腺癌(CSPC: castration-sensitive prostate cancer)および、去勢抵抗性前立腺癌(CRPC: castration-resistant prostate cancer)と、ASCT2の関連性を検討するため、各種の前立腺癌細胞株を用い、その細胞増殖と、ASCT2、およびアンドロゲン受容体(AR)等の発現レベルを比較、検討した。

### 【方法】

ヒト前立腺癌細胞株であるLNCaP(CSPC細胞株)と、ARバリエーションであるARV7発現を有する22Rv1(CRPC細胞株)を用い、in vitroでASCT2を標的としたsiRNAによる発現抑制療法と、ARのantagonistであるEnzalutamide(Enz)を使用した実験を行い、単独、または併用での細胞増殖形態やWestern Blotting(WB)を用いたタンパク発現レベルの解析を行った。細胞培養は、ウシ胎児血清(FBS)、チャコール/デキストラン処理を行ったFBS(CSS)を含むRPMI培地を使用した。

### 【結果】

LNCaPにおいて、FBS培地でsiRNAを用いたASCT2抑制療法では、コントロール群と比較し、細胞増殖能の著明な低下を認められたが、WBにおいてAR発現の低下は認めなかった。また、LNCaPにAR antagonist であるEnzを付加した実験系では、AR発現の低下に伴い、LNCaP細胞増殖能の著明な低下が認められたが、ASCT2発現に影響を及ぼさなかった。これらの結果を踏まえ、LNCaPにおいてASCT2抑制とEnz付加による併用療法を施行したところ、細胞増殖能は、単独療法と比較し有意に低下し、それに伴い、ARの更なる発現低下を認めた。ASCT2抑制とEnzの相乗効果により、LNCaPの細胞増殖能が、さらに抑制される可能性があることが示唆された。次に、CRPC細胞株である22Rv1を用い、同様のASCT2抑制療法を行い、その細胞増殖形態とAR、ARV7発現についてWBを用い検討した。22Rv1の細胞増殖能は、FBS、CSS培地とともに、コントロール群と比較しASCT2抑制下で有意な低下を認めた。また、いずれの培地においても、ASCT2抑制下で、ARV7の発現低下を認めた。しかしながら、AR発現レベルに影響を及ぼさなかった。これらの結果から、前立腺癌細胞において、ASCT2の抑制がCSPCだけでなく、ARV7陽性CRPCにおいても細胞増殖を抑制する可能性が示唆された。

### 【考察】

CSPC細胞株であるLNCaPにおいて、siRNAを用いたASCT2抑制療法により、細胞増殖能の著明な低下が認められた。また、この現象がWBの解析により、AR発現に影響を及ぼさなかったことから、ASCT2抑制が、AR axisから独立したメカニズムを介してLNCaPの細胞増殖を抑制する可能性があることが示唆された。また、ASCT2抑制とEnzによる併用療法では、細胞増殖能とAR発現レベルは、それぞれ単独療法と比較し、ともに有意な低下を認めた。これらの結果から、LNCaPにおいて、ASCT2抑制とEnz投与による相乗効果の可能性が示唆された。一方、ARV7陽性CRPC 株である22Rv1では、ASCT2 抑制療法において、細胞増殖能の低下が認められたが、一連の現象が、AR発現に影響を及ぼさず、ARV7の発現低下のみを来している点が非常に興味深い。今後、前立腺癌において、ASCT2、AR、およびARV7の関連性の更なる追及が必要と考えられた。

### 【結語】

本研究では、ASCT2抑制療法により、CSPC、CRPCのいずれの前立腺癌細胞の増殖抑制効果が示唆された。また、CSPC細胞において、ASCT2抑制とEnz併用による相乗効果の可能性も示され、ASCT2が前立腺癌において、新規標的因子として確立される可能性が示唆された。

## 論文審査結果の要旨

去勢抵抗性前立腺癌(CRPC)では、アンドロゲン受容体(AR)のリガンド結合部位を欠損するスプライシング・バリエーション(AR-V7)の発現などを介して、抗アンドロゲン療法を無効化する病態が知られている。一方で、本研究課題として取り上げたASCT2(Alanine-serine-cysteine transporter 2)は中性アミノ酸の細胞内取り込みに関与する Na<sup>+</sup> 依存性トランスポーターであり、癌細胞の増殖に重要な役割を担っており、前立腺癌における活性化経路の1つと考えられるが、CRPCにおける機能は解明されていない。本研究では、ヒト前立腺癌細胞株を用いてASCT2のsiRNAによる抑制でAR-V7陽性CRPCの細胞増殖が抑制され、さらにASCT2抑制とエンザルタミドによる併用療法では、AR-V7陽性CRPC細胞の増殖能の低下を認められたが、AR発現レベル自体には影響を及ぼさないことを示した。この結果は、ASCT2がアンドロゲン受容体を介さない経路でCRPC前立腺癌細胞の増殖に関わる因子であることを示しており、ASCT2の抑制がCRPCに対する新規の治療標的因子として確立される可能性が示唆された。本研究により得られたこれらの結果は新たな知見であり、その内容はJournal of Clinical Medicine誌(IF: 2.659)にも掲載されており審査委員会として学位授与に十分値するものと判断した。