九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

Optimization of dosing schedule of chemotherapeutic agents targeting amino acid metabolism in cancer cells

白水, 翔也

https://hdl.handle.net/2324/1931843

出版情報：九州大学, 2017, 博士（臨床薬学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

KYUSHU UNIVERSITY

（様式９－3）

氏名	白水　翔也
論文名	Optimization of dosing schedule of chemotherapeutic agents targeting amino acid metabolism in cancer cells （がん細胞におけるアミノ酸代謝を標的とした抗がん剤の至適投与法に関する検討）
論文調査委員	主　査　九州大学　　教授　　大戸　茂弘 副　査　九州大学　　教授　　小柳　悟 副　査　九州大学　　教授　　家入　一郎 副　査　九州大学　　准教授　　松永　直哉

論文審査の結果の要旨

アミノ酸は正常な細胞の機能維持のみならず、がん細胞の増殖においても必要な栄養素である。多くの細胞はがん化に伴いアミノ酸の生合成や代謝に関わる酵素の発現が変化し、アミノ酸の要求能が増加するため、その取込み過程や生合成経路は新たながん治療標的として捉えられている。一方、血中のアミノ酸濃度や、その合成・分解に関わる酵素の発現にも時刻依存的な変動が認められている。また多くの薬物の効果や副作用には投薬時刻の違いによる差異が認められる。しかしながら、アミノ酸の取込み過程や生合成経路を標的とした抗がん剤の効果に投薬時刻の違いによる差異が生じるか否か詳細に検討されていない。本研究は、まず既存のアミノ酸代謝標的薬である L-アスパラギナーゼに着目し、腫瘍増殖抑制効果に及ぼす投薬時刻の影響について検討した。次に、細胞のがん化過程において異常増殖能獲得に最も寄与するアミノ酸の探索を行い、同定したアミノ酸の取込み阻害剤の腫瘍増殖抑制効果に及ぼす投薬時刻の影響について検討した。

まず、既存のアミノ酸標的薬で、アスパラギン分解酵素である L-アスパラギナーゼを用いて、その腫瘍増殖抑制効果に及ぼす投薬時刻の影響について検討した。細胞増殖の亢進が細胞外からのアスパラギン取込みに依存しているか否かを検討する目的で、各種マウス固形腫瘍細胞 (S-180、C-26、4T1) をアスパラギン不含培地中で培養し、それらの増殖能を評価した。その結果、全ての細胞種において増殖能が低下した。また、L-アスパラギナーゼを添加することで培地中のアスパラギンが分解され、各種がん細胞内のアスパラギン含量も低下した。L-アスパラギナーゼは、培地中（細胞外）からのアスパラギンの供給を阻害することで、マウス固形腫瘍細胞の増殖を抑制するものと思われる。次に、マウス乳がん 4T1 細胞を移植した担がんモデルマウスを対象に、L-アスパラギナーゼの腫瘍増殖抑制効果について検討した。明期中半 (13:00) に L-アスパラギナーゼ (5U/kg) を単回静脈内投与したところ、血中アスパラギン濃度は有意に低下し、その低下作用は投与後 48 時間まで持続した。そこで、L-アスパラギナーゼ を 48 時間間隔で 13:00 に反復静脈内投与したところ、腫瘍の増殖は Saline 投与群と比較して有意に低下した。一方、L-アスパラギナーゼ を暗期中半 (1:00) に単回静脈内投与したところ、血中アスパラギン濃度低下作用は投与後 24 時間まで観察された。また、48 時間間隔で 1:00 に反復静脈内投与して

も、有意な腫瘍増殖抑制効果は認められなかった。これらの結果から、L-アスパラギナーゼによる血中アスパラギン濃度低下作用および 4T1 腫瘍に対する増殖抑制効果は、投薬時刻により異なることが明らかになった。

がん化した細胞では様々なアミノ酸の含量が細胞の生存や異常増殖能獲得などに関与しているが、本研究の結果からシステイン/シスチンが腫瘍細胞の増殖に大きく寄与していることが明らかとなった。システインの細胞内取込みにはナトリウム依存性中性アミノ酸トランスポーターのひとつである ASCT2 が関与しているが、培地中や血液中におけるシステインは容易に酸化されてシスチンとなり、シスチン/グルタミン酸トランスポーター (xCT) を介して細胞内へ取り込まれる。細胞内に取り込まれたシスチンは還元されて再びシステインとなり、グルタチオンの生合成などに利用される。xCT の選択的阻害剤であるエラスチンをがん化させたマウス胎仔線維芽細胞 (MEF)に曝露したところ、細胞内のシステインとグルタチオン含量の低下と共に、増殖能の有意な低下が認められた。また、マウスおよびヒト由来のがん細胞の増殖がシステインの有無により影響を受けたことから、担がんモデルマウスを用いてエラスチンの腫瘍増殖抑制効果について検討した。ヒト乳がん MDA-MB-231 細胞を BALB/c nude マウスの背部皮下に移植し、13:00 にエラスチン (0.5nmol/匹) を 72 時間間隔で反復腫瘍内投与した結果、有意な腫瘍増殖抑制効果が認められた。一方、エラスチンを 1:00 に反復投与しても有意な腫瘍増殖抑制効果は観察されなかった。これらの結果から、エラスチンによる腫瘍細胞へのシステイン/シスチン取込み阻害作用は時刻により異なり、その腫瘍増殖抑制効果にも影響を及ぼすことが明らかになった。

一般に、正常細胞に比べてがん細胞のアミノ酸要求性は亢進しており、アミノ酸の取込みや生合成経路はがん治療における新たな標的になると期待されている。本研究における一連の結果から、がん細胞のアミノ酸要求性は時刻により変化し、要求能が最も亢進する時間帯にその阻害剤を投与することで、高い腫瘍増殖抑制効果が得られる可能性が示された。現在、いくつかの化合物がアミノ酸を標的にした抗がん剤として開発段階にあるが、それら化合物の効果も投薬時刻により変化すると考えられる。本研究で得られた成果や方法論は、アミノ酸を標的にした抗がん剤の至適投与法の構築に寄与することが期待できる。これらのことから、申請者は博士（臨床薬学）の学位に値すると認める。