

細胞間タイト結合を介したアミノ酸輸送の制御による 新規がん悪性化機構の解明

岐阜薬科大学生命薬学大講座生化学研究室・教授 五十里 彰

■ 目的

超高齢社会の到来とともに、がんの罹患者数・死亡者数は増加傾向にある。特に肺がんは自覚症状が出現しにくく、発見が遅れることが多いため、効果的な予防法の開発が切望される。がん細胞が構築する微小環境は悪性化(増殖能や治療抵抗性の獲得)に関与するが、その構築機構は不明である。また、糖だけでなくアミノ酸代謝の異常が悪性化に寄与することが明らかになってきたが、その機序は大部分が不明である。これまでに我々は、肺腺がん細胞に細胞間タイト結合分子のクローディン(CLDN)1やCLDN2が高発現することを見出し、その発現制御機構や病態生理的役割を解明した。最近、アミノ酸トランスポーター(LAT)の発現がCLDN1発現と相関することを見出した。そのため、『細胞間タイト結合分子の異常発現によって微小環境のアミノ酸バランスが崩壊し、がん細胞が悪性化する』と仮説をたてた。本研究では、CLDNサブタイプの異常発現がLAT発現、細胞間アミノ酸透過性、抗がん剤感受性に及ぼす影響を検討した。

■ 方法

実験には、ヒト肺腺がん由来のA549細胞を使用した。リアルタイムPCR法で、CLDNやLAT mRNA量を測定した。細胞をトランスウェルプレートに播種し、上皮膜間透過性を評価した。

■ 結果および考察

A549細胞を3D培養したところ、2D培養と比較してLAT1～LAT3 mRNA量が有意に増加した。3D培養により細胞はスフェロイドを形成し、スフェロイド内は低酸素、低栄養、低pHのストレス状態になる。2D培養した細胞を低酸素環境に暴露したところ、LAT1～LAT3 mRNA量は増加しなかった。また、乳酸の添加やグルコース除去によってもLATの発現量は有意に変化しなかった。一方、細胞をアミノ酸除去培地でインキュベーションしたところ、LAT1～LAT3 mRNA量が有意に増加した。以上の結果から、アミノ酸供給の低下によって、LATの発現量が増加すると示唆された。また、アミノ酸除去培地にグルタミンやシステインを添加したところ、LAT mRNA量が低下したため、これらのアミノ酸がLATの発現調節に関与すると示唆された。

3D培養下でCLDN1発現をノックダウンすると、LAT1 mRNA量が低下した。スフェロイド外層細胞においてタイトジャンクションに特徴的なkissing pointsの構造が確認され、CLDN1ノックダウンによりこの構造が減少した。CLDN1ノックダウンにより上皮膜間アミノ酸透過性と抗がん剤透過性が亢進した。また、スフェロイド内の抗がん剤蓄積量を増加させ、細胞生存率の低下を増強した。以上の結果から、スフェロイド外層細胞にCLDN1が高発現し、アミノ酸や抗がん剤に対するバリアを形成することが示唆された。

■ 結語

本研究により、肺腺がん細胞に高発現するCLDN1はアミノ酸に対するバリアを形成することにより、スフェロイド内が低栄養状態となり、がん細胞が増悪化することが示唆された。さらに、CLDN1は抗がん剤透過性を低下させることによって抗がん剤抵抗性の獲得に寄与することが示唆された。CLDN1の発現を低下させる化合物は、新たながん悪性化予防薬になることが期待される。