



Title	MCTsに着目した効果的な乳がん治療戦略の構築に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	灘井, 崇宜
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(臨床薬学)
Dissertation Number	甲第14850号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/85662
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Takanobu_Nadai_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士(臨床薬学) 氏名 灘井 崇 宜

審査担当者	主査	教授	小林 正 紀
	副査	教授	菅 原 満
	副査	講師	鳴 海 克 哉
	副査	教授	井 関 健 (北海道医療大学薬学部)

学位論文題名

MCTsに着目した効果的な乳がん治療戦略の構築に関する研究

博士学位論文審査等の結果について(報告)

我が国における乳がん患者死亡数は年々増加していることから、新たな治療標的の探索は重要である。乳がん患者の約70%で *estrogen receptors (ERs)* の高い発現が認められていることから、手術前後にER拮抗薬 *tamoxifen* を中心とした薬物療法が第一選択として行われる。しかし、長期的な服用により約30%の患者において *tamoxifen* に耐性を示すことから、その機序ならびに耐性化の問題に対する治療戦略の確立が求められている。*Monocarboxylate transporters (MCTs)* は14種類のアイソフォームから構成されるトランスポーターであり、*MCT14* はがん細胞の生存において重要とされている乳酸を輸送する。近年、乳がん患者の腫瘍組織における *MCT1* および *MCT4* の高い発現が明らかとなり、予後不良因子であることが報告された。しかし、*MCT1* あるいは *MCT4* のいずれのアイソフォームが、がんの生育において重要な役割を担っているかは検討の余地が残されている。これまでに我々は *MCT1* 選択的阻害剤 *5-oxoproline (5-OP)* および *MCT4* 選択的阻害剤 *bindarit* を見出しているが、これらの *MCT* 阻害剤が、がん細胞に対して与える影響については未だ不明である。そこで本研究では、ER陽性乳がんが発現する *MCTs* に着目し、*MCT* 阻害剤と *tamoxifen* の併用による効果的な乳がん治療効率の向上を目指して種々検討を行った。

使用したER陽性乳がん細胞株における *MCTs* の発現を評価したところ、*MCF-7* 細胞ならびに *T47D* 細胞において *MCT1*、*MCT4* の発現が確認された。次に、乳酸輸送において中心的な役割を担う *MCT* アイソフォームを推定するため、放射性同位体で標識した乳酸を用いて阻害実験を行った。両細胞において、*MCT1* 選択的阻害剤 *5-OP* は乳酸輸送を約20%低下させ、*MCT4* 選択的阻害剤 *bindarit* は乳酸輸送を約50%低下させた。また、低濃度で *MCT1* を、高濃度で *MCT1* と *MCT4* を阻害する α -cyano-4-hydroxycinnamic acid (*CHC*) においても同様の傾向が確認されたことから、ER陽性乳がん細胞における乳酸輸送は *MCT4* が中心的な役割を担う可能性が示された。続いて、*tamoxifen* の活性代謝物である *4-hydroxytamoxifen (4-OHT)* と *MCT* 阻害剤を併用した際の殺細胞効果について評価したところ、*5-OP* は *4-OHT* の IC_{50} に影響を与えなかった一方で、*bindarit* は *4-OHT* の IC_{50} を約1.5倍増大させた。さらに、*MCT4* を選択的に阻害する *fenofibric acid* を用いて同様の検討を行ったところ、*4-OHT* の IC_{50} は有意に増大した。以上より、*MCT4* の阻害は *4-OHT* の殺細胞効果を減弱させる可能性が示された。

MCT4 の発現を制御する *hypoxia inducible factor-1 α (HIF-1 α)* は *ERs* と関連があり、その過剰発現が予後不良に関連することが報告されている。そこで、*MCT4* の阻害による *HIF-1 α* の発現増大が *4-OHT* の殺細胞効果の減弱の一因となると仮説を立て、*HIF-1 α* が *4-OHT* の殺細胞効果に与える影響について検討を行った。*MCT* 阻害剤を *MCF-7* 細胞に曝露した際の *HIF-1 α* タンパク質発現

量进行评估したところ、bindarit は発現を有意に増大させた。その際の細胞内乳酸蓄積量は顕著に増加し、さらに細胞内 pH は減少する傾向が認められた。一方、5-OP は HIF-1 α タンパク質発現量および乳酸蓄積量に影響を与えなかった。次に HIF-1 α の発現が 4-OHT の殺細胞効果に与える影響を評価すべく HIF-1 α を knockdown したところ、4-OHT の殺細胞効果は増大した。一方で、低酸素条件下による HIF-1 α の誘導は 4-OHT による殺細胞効果を減弱させることを見出した。以上より、MCT4 阻害剤 bindarit は HIF-1 α タンパク質発現量の増大を介して、4-OHT の殺細胞効果を低下させることが示唆された。

HIF-1 α タンパク質発現量は培養液中のグルコース濃度に依存して増大する。そこで培地中のグルコース濃度の低下により HIF-1 α 発現が減少すると予想し、これまでの検討より培地中のグルコース濃度を 1/5 とした低グルコース条件下において MCT 阻害剤が 4-OHT の殺細胞効果へ与える影響を評価した。まずグルコース濃度の違いが HIF-1 α タンパク質発現量に与える影響を検討した結果、低グルコース条件下において HIF-1 α 発現の有意な低下が認められた。またその際の MCTs の mRNA 量は、MCT1 において上昇した一方で、MCT4 は低下傾向を示した。本条件下において MCT 阻害剤と 4-OHT の併用効果を評価したところ、5-OP は 4-OHT による殺細胞効果を上昇させた。また Tamoxifen は抗 ERs 作用に加え、酸化ストレスを惹起させることが報告されている。したがって 5-OP の併用により酸化ストレスが増大することで 4-OHT の殺細胞効果が増強するのではないかと考え、酸化ストレス関連遺伝子について評価した。その結果、4-OHT と 5-OP の併用はミトコンドリアの酸化ストレスを反映する superoxide dismutase (SOD)2 の mRNA 量を増大させた。さらに SOD2 の発現を制御する転写因子 nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) においても同様の傾向が認められた。一方で、4-OHT と bindarit の併用は SOD2 および Nrf2 の発現に影響を与えなかった。これらの結果より、MCT1 阻害剤 5-OP はミトコンドリアの酸化ストレスの増大を介して、4-OHT の殺細胞効果を増強することが示唆された。

著者が発見したこれらの知見は、MCT 阻害剤と tamoxifen の併用が乳がん治療に与える影響についての理解に重要であり、がん治療を目的とした MCT 阻害剤の応用に貢献しうると考えられる。よって著者は、北海道大学博士（臨床薬学）の学位を授与される資格あるものと認める。