

## 子宮頸癌の発癌過程における LAT-1 発現の変化

宇野 枢 桑原 晴樹 倉田 厚<sup>1</sup>  
菅間 博<sup>2</sup>

杏林大学医学部 6 年

<sup>1</sup> 東京医科大学分子病理学講座

<sup>2</sup> 杏林大学医学部病理学教室

### 緒言

L 型アミノ酸トランスポーター 1(LAT1) は、Na 非依存性のアミノ酸輸送トランスポーターであり、細胞増殖に必須であると考えられている (1) ~ (3)。LAT1 の発現は様々な癌細胞株や癌組織の免疫学的染色によって示されているが、子宮頸癌における報告はなかった (4) ~ (11)。そこで我々は子宮頸癌の発癌過程における LAT1 発現の検討を行うとともに、発癌過程による LAT1 発現の変化に関して、Ki-67 や p16 などの免疫学的染色を併せて行うことにより、LAT1 の発癌過程における役割を考察した。

### 対象と方法

対象としては 2008 年から 2011 年の間に杏林大学医学部付属病院で切除されパラフィン包埋された合計 111 症例を用いた。免疫組織学的に正常子宮頸部、異形成 (軽度・中等度・高度)、上皮内癌、浸潤性子宮頸扁平上皮癌・腺癌での LAT1 の発現を検討した。LAT1 は膜蛋白であるため、免疫組織学的に細胞膜に発現している症例のみを陽性と判断し、細胞質での染まりに対しては陰性とした。またそれぞれの症例に対して細胞増殖のマーカーとして知られている Ki-67 とヒトパピローマウイルスの感染を示すとされている p16 の免疫染色も同様に行い、各発癌過程における LAT1 との発現との関連性を検討した。統計解析には SPSS スタンダードバージョンを用いた。

### 結果

LAT1 は正常扁平上皮の基底層のみに発現が認められ、異形成が進行するにしたがって発現は著明に減少していた (Fig1-A,B)。さらに、正常子宮頸腺では LAT1 の発現は認められなかったが、いくつかの子宮腺癌では LAT1 の発現上昇が認められた (Fig2-C)。統計学的な検討の結果、正常扁平上皮と CIN1・2、CIN1・2 と CIN3、CIN3 と扁平上皮癌の間には有意差が認められた (table2)。また、正常腺組織と腺癌の間にも有意差が認められた。

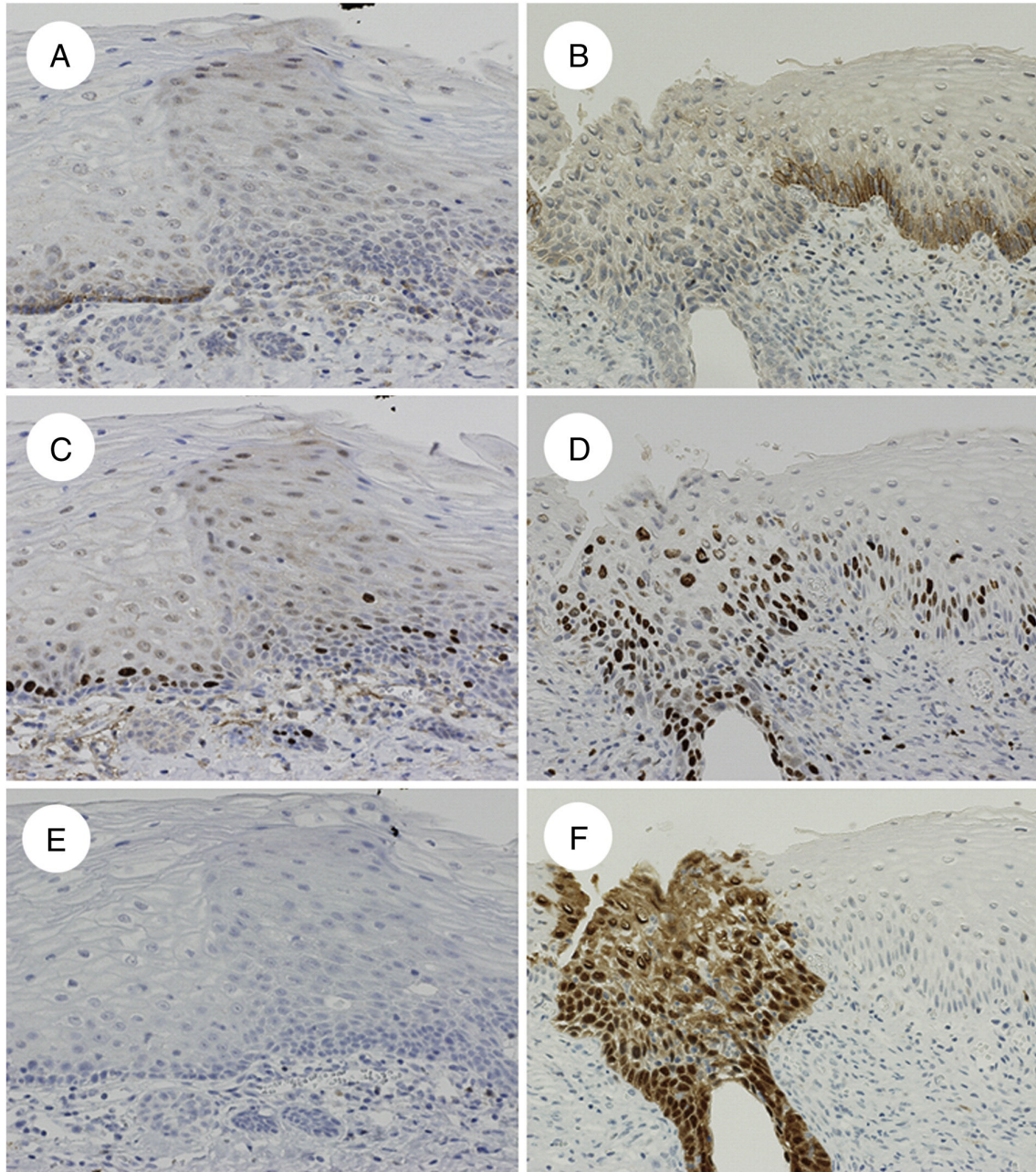
Ki-67 や p16 は正常扁平上皮には発現が認められなかったが、LAT1 とは対照的に異形成が進行するにもなって発現が上昇していた (Fig1-C,D,E,F)。Ki-67 と p16 は発癌段階で認められた発現は、その後の段階においても継続して認められた。

浸潤性子宮頸癌では、LAT1 は、興味深いことに特に浸潤先進部で発現が上昇していることが確認された (Fig2-B)。Ki-67 や p16 の浸潤性子宮頸癌での発現は、異形成とあまり変わらなかった (Table1)。

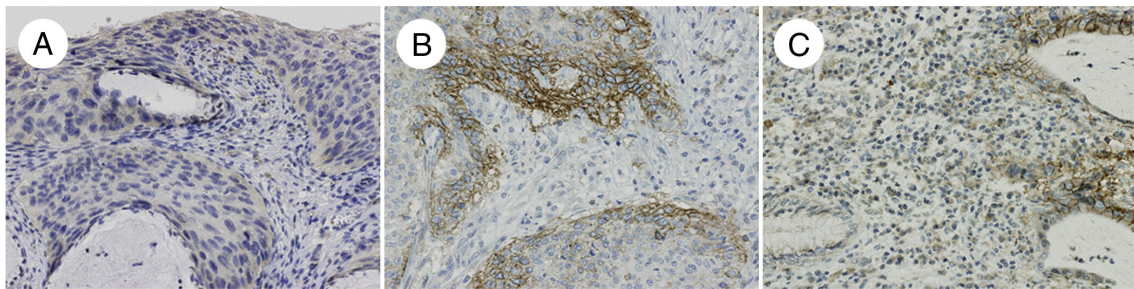
### 考察

子宮頸癌の発癌過程における LAT1 発現の病理的意義について考察した。p16 の発現の上昇はヒトパピローマウイルスの感染を示す。異形成病変において LAT1 の発現が著明に減少するに対して、p16 の発現が上昇していることから、LAT1 の発現の低下はヒトパピローマウイルスの感染と関連すると考えられた。ヒトパピローマウイルスは扁平上皮基底層に感染し、蛋白質の転写・翻訳を阻害する。今回の実験結果より、LAT1 などの細胞の

Key words: L-type amino acid transporter, uterine cervical cancer, Carcinogenesis, Immunohistochemistry



**Fig. 1** LAT1, Ki-67, and p16 expressions in normal squamous epithelium and CIN (original magnification  $\times 200$ ). A, LAT1 expression is confined to the basal layer in normal squamous epithelium (left), whereas no LAT1 expression is detected in CIN 1 (right). B, Positive basal LAT1 expression in normal squamous epithelium (right) in contrast to negative LAT1 expression in CIN 2 (left). C, The same field as A shows Ki-67 expression confined to the basal/parabasal layers (left) and scattered positive signals confined to the lower third of the epithelium (right). D, The same field as B shows Ki-67 signals confined to the lower third (right) and extended to the upper third (left) of the epithelium. E, The same field as A shows no p16 expression. F, The same field as B shows full-length staining of p16 in CIN 2.



**Fig. 2** LAT1 expression in CIN 3, SCC, and adenocarcinoma (original magnification  $\times 200$ ). A, No LAT1 immunopositivity is observed in CIN 3 with glandular involvement. B, Not only obvious invasive front but also rim and center of invasive islands, showing round-shaped alveolar appearance, which is not indicative of obvious invasion, of SCC show high expression of LAT1. C, No LAT1 expression in normal cervical glands (lower left), but cytomembranous LAT1 expression is occasionally observed in adenocarcinoma.

**Table 1** Average LAT1 expression as well as Ki67 and p16 scores in different groups

Test Groups	n	LAT1 expression (%)	Ki67 score	P16 score
Normal squamous epithelium	49	56.1 $\pm$ 28.8	0.98 $\pm$ 0.14	0.02 $\pm$ 0.14
CIN 1 and 2	17	6.7 $\pm$ 6.7	3.1 $\pm$ 1.4	1.4 $\pm$ 1.7
CIN 3	19	3.2 $\pm$ 7.3	4.3 $\pm$ 0.65	3.7 $\pm$ 1.9
Glandular involvement	20	1.8 $\pm$ 4.8	4.5 $\pm$ 0.83	4.3 $\pm$ 1.3
SCC	17	23.3 $\pm$ 25.0	4.4 $\pm$ 0.83	3.5 $\pm$ 1.5
normal uterine cervical glands	49	1.7 $\pm$ 8.1	0	0
Adenocarcinoma	9	20.9 $\pm$ 33.6	4.2 $\pm$ 1.6	3.2 $\pm$ 1.9

CIN: cervical intraepithelial neoplasia, SCC: squamous cell carcinoma

**Table 2** Statistical analyses of immunohistochemical results of LAT1, Ki67, and p16

Test Groups	n	LAT1		Ki67		P16	
		rho	P	rho	P	rho	P
Normal squamous epithelium vs. CIN 1 and 2 (Groups 1 vs. 2)	66 (49 vs. 17)	.597	< .001	.787	< .001	.577	< .001
CIN 1 and 2 vs. CIN 3 (Groups 2 vs. 3)	36 (17 vs. 19)	.356	< .05	.484	.002	.537	.001
CIN 3 vs. SCC (Groups 3 vs. 5)	36 (19 vs. 17)	-.567	< .001	.025	> .05	-.077	> .05
Glandular involvement vs. SCC (Groups 4 vs. 5)	37 (20 vs. 17)	-.614	< .001	-.059	> .05	-.265	> .05
Normal uterine cervical glands vs. Adenocarcinoma (Groups 6 vs. 7)	58 (49 vs. 9)	-.564	< .001	.923	< .001	.837	< .001
SCC vs. Adenocarcinoma (Groups 5 vs. 7)	26 (17 vs. 9)	.037	> .05	-.053	> .05	-.070	> .05

Plus rho indicates more LAT1 (or Ki67, p16) expression in the upper row, while minus rho indicates more LAT1 (or Ki67, p16) expression in the lower row.

CIN: cervical intraepithelial neoplasia, SCC: squamous cell carcinoma

維持に不可欠な蛋白質合成の阻害を起こることによって、前癌病変とされる異形成が生じるのではと考えられる。この時 Ki67 の発現は認められていることから、前癌病変の段階では、LAT1 は癌細胞の増殖に関与していない可能性がある。しかし、浸潤性子宮頸癌において、LAT1 の発現が再び上昇することから、LAT1 は子宮頸癌の浸潤に関して悪性化の獲得に関与していると考えられた。このことは正常では LAT1 の発現が認められない腺組織においても、いくつかの腺癌で LAT1 の発現が認められていることから、LAT1 の発現が浸潤と関連していると考えられる。また、LAT1 は細胞の増殖に関与していると考えられているため、LAT1 を阻害することにより癌組織の増殖を抑えることができると考えられている。今回の実験結果より、正常扁平上皮基底層に発現している LAT1 を阻害することは、異形成などの前癌病変につながる可能性があることが示唆された。さらに LAT1 は、正常扁平上皮基底層と比較して CIN1 より発現が低下しており、子宮頸部における軽度の病変についての病理診断に有用であると考えられた。

#### 謝 辞

本研究は平成 24 年度杏林医学会学生リサーチ賞を受賞した。病理学教室ならびに薬理学教室関係者の方々には深く感謝いたします。今後、学生が積極的に研究活動できる環境が杏林大学医学部の特色として根付くことを願っています。

#### 引用文献

1. Kanai Y, Segawa H, Miyamoto K, Uchino H, Takeda E, Endou H. Expression cloning and characterization of a transporter for large neutral amino acids activated by the heavy chain of 4F2 antigen (CD98). *J Biol Chem*. 1998 Sep 11;273(37):23629-32.
2. Yoon JH, Kim IJ, Kim H, Kim HJ, Jeong MJ, Ahn SG, Kim SA, Lee CH, Choi BK, Kim JK, Jung KY, Lee S, Kanai Y, Endou H, Kim DK. Amino acid transport system L is differently expressed in human normal oral keratinocytes and human oral cancer cells. *Cancer Lett*. 2005 May 26;222(2):237-45. Epub 2004 Nov 5.
3. Yoon JH, Kim YB, Kim MS, Park JC, Kook JK, Jung HM, Kim SG, Yoo H, Ko YM, Lee SH, Kim BY, Chun HS, Kanai Y, Endou H, Kim DK. Expression and functional characterization of the system L amino acid transporter in KB human oral epidermoid carcinoma cells. *Cancer Lett*. 2004 Mar 18;205(2):215-26.
4. Kaira K, Oriuchi N, Imai H, Shimizu K, Yanagitani N, Sunaga N, Hisada T, Tanaka S, Ishizuka T, Kanai Y, Endou H, Nakajima T, Mori M. Prognostic significance of L-type amino acid transporter 1 expression in resectable stage I-III nonsmall cell lung cancer. *Br J Cancer*. 2008 Feb 26;98(4):742-8. Epub 2008 Feb 5.
5. Kaira K, Oriuchi N, Imai H, Shimizu K, Yanagitani N, Sunaga N, Hisada T, Ishizuka T, Kanai Y, Nakajima T, Mori M. Prognostic significance of L-type amino acid transporter 1 (LAT1) and 4F2 heavy chain (CD98) expression in stage I pulmonary adenocarcinoma. *Lung Cancer*. 2009 Oct;66(1):120-6. Epub 2009 Jan 26.
6. Singh RK, Siegal GP. Amino acid transport systems modulate human tumor cell growth and invasion: a working hypothesis. *Med Hypotheses*. 1995 Mar;44(3):195-201.
7. Kobayashi H, Ishii Y, Takayama T. Expression of L-type amino acid transporter 1 (LAT1) in esophageal carcinoma. *J Surg Oncol*. 2005 Jun 15;90(4):233-8.
8. Nawashiro H, Otani N, Uozumi Y, Ooigawa H, Toyooka T, Suzuki T, Katoh H, Tsuzuki N, Ohnuki A, Shima K, Shinomiya N, Matsuo H, Kanai Y. High expression of L-type amino acid transporter 1 in infiltrating glioma cells. *Brain Tumor Pathol*. 2005;22(2):89-91.
9. Kobayashi K, Ohnishi A, Promsuk J, Shimizu S, Kanai Y, Shiokawa Y, Nagane M. Enhanced tumor growth elicited by L-type amino acid transporter 1 in human malignant glioma cells. *Neurosurgery*. 2008 Feb;62(2):493-503; discussion 503-4.
10. Travers MT, Gow IF, Barber MC, Thomson J, Shennan DB. Indoleamine 2,3-dioxygenase activity and L-tryptophan transport in human breast cancer cells. *Biochim Biophys Acta*. 2004 Feb 10;1661(1):106-12.
11. Nakanishi K, Ogata S, Matsuo H, Kanai Y, Endou H, Hiroi S, Tominaga S, Aida S, Kasamatsu H, Kawai T. Expression of LAT1 predicts risk of progression of transitional cell carcinoma of the upper urinary tract. *Virchows Arch*. 2007 Sep;451(3):681-90. Epub 2007 Jul 11.

## Divergent expression of L-type amino acid transporter 1 during uterine cervical carcinogenesis

Kaname UNO<sup>1</sup>, Haruki KUWABARA<sup>1</sup>, Atsushi KURATA<sup>2</sup>  
Hiroshi KAMMA<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Kyorin University School of Medicine

<sup>2</sup> Department of Molecular Pathology, Tokyo Medical University

<sup>3</sup> Department of Pathology, Kyorin University School of Medicine

### Summary

L-type amino acid transporter 1 (LAT1) is a Na<sup>+</sup>-independent neutral amino acid transporter that has an essential role in cell proliferation. Although LAT1 expression is observed in various tumor cell lines and immunohistochemical expression of LAT1 has been investigated in carcinomas of various organs, LAT1 expression in uterine cervical neoplasm has not been reported. Therefore, in the present study, we immunohistochemically analyzed LAT1 expression along with the well-known markers of cervical carcinogenesis Ki-67 and p16 in normal uterine cervical mucosa (49 specimens) as well as cervical intraepithelial neoplasia (17 mild or moderate dysplasias and 19 severe dysplasias or carcinomas in situ) and invasive carcinomas (17 squamous cell carcinomas and 9 adenocarcinomas). LAT1 expression was limited to

the basal layer of normal squamous epithelium, and it was significantly decreased in cervical intraepithelial neoplasia ( $P < .001$ ), generally paralleled by increased expression of Ki-67 and p16. Interestingly, in invasive squamous cell carcinoma, LAT1 expression again increased especially at the invasive fronts ( $P < .001$ ), whereas Ki-67 and p16 expressions were almost unchanged relative to noninvasive neoplasia. Although virtually no LAT1 expression was demonstrated in normal uterine cervical glands, LAT1 expression was observed in some adenocarcinomas ( $P < .001$ ). The present study suggests that LAT1 expression decreases because of human papillomavirus infection as reflected by p16 overexpression in cervical intraepithelial neoplasia, whereas LAT1 expression in invasive carcinoma is associated with acquired malignant potential.