

論文内容要旨

報告番号	甲 先 第 252 号	氏 名	島村 義樹
学位論文題目	5-アミノレブリン酸と超音波の併用による乳がん細胞に対する抗腫瘍活性の評価と作用機序の解明		
<p>内容要旨</p> <p>乳がんとは「乳腺」から発生するがんで、他のがん同様に細胞の遺伝子異常の蓄積によって発生することが知られている。乳がん罹患するリスクは年齢と共に増加し、日本人女性の場合、生涯で乳がん罹患する確率は16人に1人である。標準的な乳がんの治療法である外科手術、化学療法は乳房の形状変化、閉経などの副作用の問題があり患者のQOLを低下させることが問題であり、これに変わる低侵襲的な治療法が求められている。</p> <p>超音波は、音波の一種でありヒトの可聴域(20Hz~20kHz)を超える周波数のものを指し、生体透過性が非常に高い。生体へ超音波を照射すると、音響エネルギーの吸収により生体組織の温度が上昇する。また、キャビテーションによる生体への化学的作用がある。超音波の医療への応用は、1939年に座骨神経痛の治療用として用いられて以来、診断と治療の両面で活用されており、安全性が高いため胎児の心臓検査にも応用されている。</p> <p>5-aminolevulinic acid (ALA) はPEPT1を介して腫瘍細胞に選択的に取り込まれ、ヘム合成系酵素群の修飾によりProtoporphyrin IX (PpIX) に変換されることが知られている。PpIXは光線力学療法(PDT)だけでなく超音波力学療法(SDT)の増感剤としての有効性も数多く報告されているが、その抗腫瘍作用に関する詳細な機序は未だ不明である。そこで私は、ALA-SDTの抗腫瘍活性に関する作用機序の解析を目的として以下の研究を行った。</p> <p>まず、マウス乳がん由来EMT6細胞に対するALAの細胞毒性をWST-1アッセイで評価したところ、1mM以下では細胞毒性を示さず、3mM以上で高い細胞毒性を示した。次に、EMT6細胞にALAを投与して生成するPpIX量の経時変化を評価したところ、経時的にPpIX量が増加し、投与後5-7時間で最大濃度を示し、24時間後で減少した。次に、腫瘍移植鶏卵モデルを用いて<i>in vivo</i>薬物動態を評価したところ、細胞の結果と同様に経時的にPpIX量が増加し、静注後5時間で最大濃度を示し、24時間後で減少した。また、肝臓や血中でも同様の傾向を示したことから、正常組織でもALAからPpIXが生合成されていることが示唆された。</p> <p>ALAと超音波の併用(ALA-SDT)による抗腫瘍活性については、腫瘍細胞、腫瘍移植鶏卵、腫瘍移植マウスでそれぞれ評価した。その結果、腫瘍細胞では20-30%程度の弱い抗腫瘍効果しか示さなかったが、腫瘍移植鶏卵および腫瘍移植マウスでは抗癌剤のアドリアマイシンと同程度の強い抗腫瘍効果を示した。この結果より、ALA-SDTは腫瘍細胞に対する殺細胞活性だけでなく</p>			

、腫瘍組織に対する複合的な抗腫瘍活性を有することが示唆された。

次に、ALA-SDT の作用機序について検討した。最初に活性酸素の生成について評価したところ、ALA-SDTは細胞質ではなくミトコンドリアで有意な活性酸素の増加を示した。それに加えて、ミトコンドリア膜電位の消失も観察されたことから、ミトコンドリアがALA-SDTの標的小器官の1つであることが示された。一方、超音波を照射した時のPpIXのNMRスペクトルに変化は確認されず、また、HPLC分析でもPpIXの保持時間やピーク面積に変化が見られなかったことから、PpIXは超音波照射によって分解および構造変化しないことが示された。そこで、OHラジカル発生剤であるtert-butyl hydroperoxide (tBHP) とPpIXの共存下でOHラジカル産生を評価したところ、PpIX量に依存してOHラジカルの大幅な増加が確認されたことから、PpIXはtBHP由来のOHラジカル産生を促進するか、もしくはラジカル捕捉剤との反応を増強することが示唆された。

以上の結果より、ALA-SDT は強い *in vivo* 抗腫瘍活性を有することが明らかとなった。また、ALA-SDTの抗腫瘍作用に関する作用機序として、ミトコンドリアに局在するPpIXと超音波によって活性酸素が発生し、その活性酸素とミトコンドリア膜脂質との反応をPpIXが促進・増強することでミトコンドリア損傷が生じ、アポトーシスによる抗腫瘍効果を発揮することが示された。