

論文内容要旨

報告番号	甲 先 第 311 号	氏 名	金子 友子
学位論文題目	炭素イオン線の抗腫瘍効果に対する5-アミノレブリン酸の増感作用と機序の解明		

内容要旨

【序論】炭素イオン線は現在の重粒子線治療で臨床使用されている放射線である。荷電粒子線である炭素イオン線は、深部で停止する直前に吸収エネルギーが最大となる特有の物理特性 (Bragg peak) を持つ。Bragg peakをターゲットとなる腫瘍の位置、大きさに合わせることで線量集中性の優れた治療が可能となる。また、X線に比べ、線エネルギー付与が高いため、X線抵抗性である難治性腫瘍の治療にも有効とされている。しかし、炭素イオン線照射単独では完治が困難な腫瘍も存在し、治療効果をより高める薬剤の開発が期待されている。一方、炭素イオン線は自体の生物学的効果が高く、主に活性酸素種 (ROS) の影響が少ないDNA 2本鎖切断によって細胞死を誘導するため、炭素イオン線の抗腫瘍効果を増強する薬剤についてはあまり報告がされていない。そこで本研究では5-アミノレブリン酸 (ALA) について着目した。

ALAは光線力学診断/療法において既に上市されている薬剤である。ALAの代謝産物であるプロトポルフィリンIX (PpIX) は、腫瘍細胞に選択的に蓄積し、ROSを介したX線の増感作用が報告されている。近年、炭素イオン線の抗腫瘍作用にROSが寄与しているとの報告があり、ALAは炭素イオン線に対してもROS産生を介して増感作用を発揮する可能性がある。よって本研究では、ALAの炭素イオン線増感剤としての有効性の評価とその作用機序の解明を試みた。

【方法】細胞はマウス由来乳腺がん細胞株EMT6を用いた。炭素イオン線照射実験は、EMT6細胞にALAまたはPpIX添加後、兵庫県立粒子線医療センターにおいて炭素イオン線 (320 MeV/ nucleon, 83.3 keV/μm) を1-1.5 Gy照射し、その後各種の評価を行った。炭素イオン線に対する増感効果はコロニーアッセイによって評価した。ミトコンドリア内ROS産生能は、MitoSOX Red試薬の添加後、蛍光顕微鏡にて蛍光強度を算出することで評価した。DNA2本鎖切断能は、γH2AX抗体を用いて免疫蛍光染色後、蛍光顕微鏡によってγH2AXフォーカス数を定量することで評価した。

【結果・考察】炭素イオン線とALAまたはPpIXの併用群は、炭素イオン線単独群に比べて有意な殺細胞活性の増強を示した。ミトコンドリア内ROS産生能は、照射3.5時間後の炭素イオン線とALAまたはPpIXの併用群において有意なROS産生量の増加を示した。炭素イオン線増感活性及びミトコンドリア内のROS産生能ともに、ALA併用群の方がPpIX併用群よりも高かった。また、DNA2本鎖切断能は、照射3時間後のALA併用群において有意なDNA2本鎖切断量の増加を示したが、PpIX併用群では有意な差は示されず、PpIXの効果は小さいことが示唆された。そこで細胞内のPpIX局在を評価した結果、ALAから合成されたPpIXは主にミトコンドリアおよび細胞質に局在し、一方、PpIXを添加した場合は主に核に局在していた。ALAはX線照射後に生じる遅発性ROS産生をミトコンドリア中心に増加させることが報告されており、今回の結果より、炭素イオン線照射においてもALA由来のPpIXがミトコンドリアおよび細胞質に局在することによって、炭素イオン線照射後のミトコンドリア内の遅発性ROS産生を増加させることで高い炭素イオン線増感活性を発揮することが明らかとなった。