

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	腫瘍内低酸素環境におけるポルフィリン代謝機構の解明
Title(English)	
著者(和文)	大塚 慎平
Author(English)	Shimpei Otsuka
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第10500号, 授与年月日:2017年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:小倉 俊一郎,中村 聡,三原 久和,和地 正明,蒲池 利章
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第10500号, Conferred date:2017/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	要約
Type(English)	Outline

論文の要約

学生氏名：大塚 慎平

論文題目

腫瘍内低酸素環境におけるポルフィリン代謝機構の解明

論文の要約

生体内においてヘム合成経路は細胞機能の恒常性維持に対して重要な役割を担っており、その代謝機構の破綻は様々な疾患の原因となる。また、ヘムの前駆体であるアミノレブリン酸 (ALA) は腫瘍特異的に蛍光物質であるプロトポルフィリン IX (PpIX) を蓄積することから、様々ながんに対して術中診断や光線力学療法 (ALA-PDT) の臨床応用が期待されている。一方固形腫瘍の一つの特徴に、酸素や栄養、薬剤などが届きにくい低酸素環境が存在することが知られている。腫瘍内低酸素環境は放射線抵抗性や薬剤抵抗性の原因となり、ALA を用いた光線力学療法 (ALA-PDT) においても治療抵抗性の原因となることが考えられる。また、酸素と親和性の高いヘムの制御は低酸素環境における適応応答に重要であることが考えられる。しかしながら、低酸素環境におけるポルフィリン代謝の変化やその制御には不明な点が多い。本研究では、低酸素下のがん細胞におけるポルフィリン代謝に対し、通常酸素下と低酸素下のポルフィリン代謝物や遺伝子発現変化を包括的に比較した。以上の知見より、腫瘍内低酸素環境におけるポルフィリン代謝機構の全容を解明することを目的とした。

先行研究により低酸素下において ALA を投与しても PpIX はほとんど蓄積せず、PDT による細胞殺傷効果が減少することが知られていたが、その分子機構については不明であった。先行研究により、低酸素下で ALA を投与すると PpIX の中間体であるコプロポルフィリノーゲン III (CPgenIII) の細胞外への排出が促進されることが示された。しかしながら、低酸素下においてポルフィリン代謝機構については明らかではなかった。そこで、低酸素下におけるポルフィリン代謝機構を明らかとするために、酸素濃度によるポルフィリン蓄積の変化を調べた。その結果、10% O_2 以下において酸素濃度が減少するにつれて PpIX の蓄積が減少し、それに伴い細胞外 CPIII 量が増加した。このことから、酸素濃度が PpIX 蓄積と細胞外 CPIII 量と深く関わることを示唆された。一方、低酸素下におけるポルフィリン代謝に関わる遺伝子発現変化はポルフィリン蓄積に影響を与えなかった。

ポルフィリン合成経路の中で、ミトコンドリアのポルフィリン合成酵素はその代謝に分子状酸素を必要とする。そこで、ミトコンドリア内ポルフィリン合成酵素における PpIX 合成を通常酸素下と低酸素下において比較した。その結果、低酸素下においてはミトコンドリアにおける酸素が不足し、PpIX の合成量が減少することを示した。また、ミトコンドリアにおける酸素利用の大部分は呼吸鎖複合体によるエネルギー産生に用いられている。このことから呼吸鎖複合体を阻害し、ミトコンドリアにおける酸素利用を抑制した。その結果、低酸素下においても細胞外 CPIII 量は減少し、PpIX の蓄積量が回復することが分かった。これらの結果より、低酸素下において呼吸鎖複合体の阻害を行うことで ALA-PDT に対する抵抗性を回避することができると示唆された。

生体内で発生する腫瘍低酸素領域を模倣するために三次元培養モデルであるスフェロイドを用いて、ALA 投与による PpIX と CPIII 量を調べた。その結果、スフェロイドにおいて細胞外で CPIII が

検出され、呼吸鎖複合体阻害剤の添加によって細胞外 CPIII 量は減少することが明らかとなった。このことから、スフェロイドにおける低酸素領域においてもミトコンドリアにおける酸素利用が制限され、PpIX 合成量減少とそれに伴った細胞外 CPIII 量の増加が起きていることが示された。一方でスフェロイドの PpIX 蓄積量は呼吸鎖複合体阻害剤を行っても増加しなかった。さらに、スフェロイドの共焦点レーザー顕微鏡解析により、スフェロイド内部における PpIX 蓄積分布は呼吸鎖複合体阻害を行っても完全には回復しないことが明らかとなった。このことから、スフェロイド内部における PpIX 蓄積量の減少はスフェロイドにおける CPgenIII 産生のみならず、ALA 輸送量の減少や低酸素下におけるポルフィリン代謝に関わるトランスポーターの発現の変化など他の要因も重要であることが示唆された。

本研究により、低酸素下における PpIX 産生にミトコンドリアの酸素利用が重要な役割を担っていることが明らかとなった。これらの結果は腫瘍内低酸素環境におけるヘム生合成経路に対し、新しい分子機構モデルとなることが期待される。