

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

題目(和文)	アミノレブリン酸による好気呼吸能亢進効果がん細胞とマクロファージに及ぼす影響
Title(English)	
著者(和文)	杉山雄太
Author(English)	Yuta Sugiyama
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11293号, 授与年月日:2019年9月20日, 学位の種別:課程博士, 審査員:小倉 俊一郎,小島 英理,和地 正明,三重 正和,八波 利恵
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11293号, Conferred date:2019/9/20, 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

# 論文要約

杉山 雄太 指導教員 小倉 俊一郎

## 【緒言】

近年、細胞の好気呼吸能の低下が老化・糖尿病・がんなど様々な一般的疾患の発症と進展に深く関わっていることが指摘されている。このようなミトコンドリアを起点とする疾患の治療のためにも、電子伝達系酵素の活性を向上し、好気呼吸能を亢進するような手法の開発が求められている。ミトコンドリア複合体 IV (Cytochrome *c* oxidase, COX) は電子伝達系の律速酵素であり、好気呼吸能の低下と密接に関連している。一方で、ヘムが欠乏した際にはヘムタンパク質である COX の発現量が低下することが報告されている。また、ヘム生合成の出発物質であるアミノレブリン酸 (ALA) の合成酵素 ALAS の活性が加齢に伴い低下することが指摘されている。以上のことから、外部から ALA を投与することでヘム生合成が促され、ヘムタンパク質である COX の発現量および活性が亢進されるという可能性が考えられる。そこで本研究では、ALA の添加・投与により COX 活性すなわち好気呼吸能に及ぼす影響を調べることを目的とした。また、好気呼吸能を直接向上させるような化合物はこれまでにあまり知られていない。そこで、ALA による好気呼吸能亢進効果の種々疾病に対する活用を検討した。すなわち、嫌氣的代謝を特徴とするがん細胞への ALA の効果や、炎症応答を示すマクロファージへの ALA の効果を調べることにした。

## 【論文の構成と要旨】

### 第 1 章 序論

ミトコンドリア電子伝達系や ALA をはじめとするヘム生合成系、あるいはがん細胞やマクロファージの先行研究の知見について概説するとともに、解決すべき問題点を提起し、本研究の背景と目的について示した。

### 第 2 章 アミノレブリン酸が好気呼吸能に及ぼす影響

マウス培養細胞を用いた実験において、COX の mRNA レベルおよびタンパク質レベルでの発現が ALA によって誘導されることを示した。また、ALA を投与したマウスの臓器サンプルを用いた実験で、COX のタンパク質発現量および活性が 1.4 倍ほど亢進することを示した。これらの結果から、ALA によって COX 亢進効果が得られることが明らかとなり、好気呼吸能の向上をもたらすことが強く示唆された。

### 第 3 章 アミノレブリン酸によるがん細胞死の誘導効果

ヒトがん培養細胞株を用いた実験で、ALA によって COX の発現が誘導され、酸素消費速

度が増加することを示した。マウスにおいて見られた好気代謝亢進効果が、がん細胞においても得られたと考えられる。さらに、これにともなって活性酸素種の発生量が増加することをスーパーオキシドアニオンラジカル ( $O_2^{\cdot-}$ ) の検出により確認した。 $O_2^{\cdot-}$  は基本的に電子伝達系が発生源であることと、そのミトコンドリア内の消去酵素である MnSOD の誘導がかかっていたことから、ALA により電子伝達系のバランスが崩され、電子伝達系由来の活性酸素種が発生していたことが強く示唆された。さらに、ALA によってがん細胞の増殖が抑制されること、その増殖抑制の大きな要因はアポトーシスによるものであることを示した。これらの結果から、ALA が抗腫瘍効果を持つことが強く示唆された。

#### **第4章 がん細胞のヘム合成と Warburg 効果の関係**

がん細胞におけるヘム生合成と Warburg 効果の関連性を明らかにすることを目的として種々の評価を実施した。

#### **第5章 アミノレブリン酸がマクロファージの免疫応答に及ぼす影響**

マクロファージには炎症性の M1 マクロファージと抗炎症性の M2 マクロファージという分極がある。M1 マクロファージは解糖系、M2 マクロファージは酸化的リン酸化がそれぞれ亢進しており、代謝の変換に伴い分極も変化することが知られている。そこで本章ではマクロファージに焦点を当て、ALA のもつ好気呼吸能亢進効果が及ぼす影響について評価した。まず、ALA によりマクロファージの HO-1 の発現量が増加すること、COX の発現が誘導されることを示し、マクロファージにおいても ALA が好気性代謝を亢進することが示唆された。さらに、M2 マクロファージで産生が増加する代表的な抗炎症性サイトカインである IL-10 の発現量を評価したところ、ALA 添加により顕著に発現量が増加していることが確認された。次に、LPS 刺激により炎症反応を促進した状態、すなわち M1 マクロファージを誘導した状態で ALA がどのような影響を及ぼすのか調べた。代表的な炎症性メディエーター iNOS、TNF- $\alpha$ 、COX2、IL-1 $\beta$ 、IL-6 の発現解析を行ったところ、ALA によりこれらの mRNA 発現量が減少することがわかった。以上の結果から、ALA のもつ好気呼吸能亢進効果及び HO-1 発現誘導効果は、M2 マクロファージの分極化を促進し、M1 マクロファージ様の炎症性メディエーター産生を抑制することが示唆された。M1 マクロファージは生体防御において重要な一方で、分極化が持続し炎症が慢性化すると疾患に繋がる。ALA の好気呼吸能亢進効果によって M2 マクロファージを誘導することで、過剰炎症を抑制できる可能性が示された。

#### **第6章 総括**

本研究により、ALA が種々の細胞において好気呼吸能を亢進することを示した。ALA を投与することによって、がん細胞においては生存率を低下させ、マクロファージにおいては過剰炎症を抑制することが明らかとなった。