

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)	論文要旨
Type(English)	Summary

論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース： Department of Graduate major in	生命理工学 生命理工学	系 コース	申請学位 (専攻分野)： Academic Degree Requested	博士 (工学) Doctor of
学生氏名： Student's Name	杉山 雄太		指導教員 (主)： Academic Supervisor(main)	小倉 俊一郎
			指導教員 (副)： Academic Supervisor(sub)	

要旨 (和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters)

【緒言】

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。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、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 (MΦ) 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を示した。

第2章 アミノレブリン酸が好気呼吸能に及ぼす影響：ALA を添加したマウス培養細胞において COX の発現が誘導されることと、ALA を投与したマウスにおいて COX のタンパク質発現量・活性が亢進することを示した。以上の結果から、ALA による COX 亢進効果が明らかとなり、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：MΦ について炎症性の M1 MΦ と抗炎症性の M2 MΦ という分極に着目した。ALA により MΦ の生存率に影響を与えずに HO-1 発現量が増加することを示した。さらに、COX の発現が亢進したことと、代表的な抗炎症性サイトカイン IL-10 の発現量が増加したことから、ALA により M2 MΦ の分極が誘導されることが示唆された。また、LPS 刺激により炎症反応を促進、すなわち M1 MΦ を誘導した状態で代表的な炎症性マーカー iNOS および種々の炎症性因子の発現を解析したところ、ALA によってこれらの発現量が減少することが明らかとなった。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 MΦ の分極化を促進し、M1 MΦ 様の炎症性因子産生を抑制することが示唆された。

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、MΦ においては過剰炎症を抑制することが明らかとなった。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

(博士課程)
Doctoral Program

論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース： Department of, Graduate major in	生命理工学 生命理工学	系 コース	申請学位 (専攻分野)： Academic Degree Requested	博士 Doctor of	(工学)
学生氏名： Student's Name	杉山 雄太		指導教員 (主)： Academic Supervisor(main)	小倉 俊一郎	
			指導教員 (副)： Academic Supervisor(sub)		

要旨 (英文 300 語程度)

Thesis Summary (approx.300 English Words)

Decreased aerobic respiratory capacity of cells is deeply related to the onset and progression of various diseases. Mitochondrial complex IV (Cytochrome c oxidase, COX) is the rate-limiting enzyme of the electron transport chain and is closely related to the decline in aerobic respiratory chain. On the other hand, it has been reported that the expression level of COX, which is a heme protein, decreases when heme is deficient. It has also been pointed out that the activity of the synthetic enzyme ALAS of 5-aminolevulinic acid (ALA), which is the starting material for heme biosynthesis, decreases with age. From the above, we made a hypothesis that administration of ALA promotes heme biosynthesis and enhances the expression level of COX. The purpose of this study was to investigate the effects of ALA addition and administration on COX activity, ie, aerobic respiratory capacity. In addition, we investigated the effects of improving the aerobic respiratory capacity of ALA on several diseases.

First, it was shown that COX expression was induced in cultured mouse cells supplemented with ALA, and that COX protein expression and activity were enhanced in mice administered ALA. The above results clarified the up-regulation effect of ALA on COX, and strongly suggested that ALA improves aerobic respiratory ability.

Second, experiments with human cancer cell lines showed that ALA induced COX expression and increased oxygen consumption rate. Furthermore, it was shown that the growth of cancer cells was suppressed by ALA, and that the major factor in suppressing the growth was due to apoptosis induced by reactive oxygen species. These results strongly suggested that ALA has an antitumor effect.

Experiments with mouse macrophage cell (MΦ) showed that ALA increased the expression level of HO-1 without affecting the survival rate of MΦ. Furthermore, the expression of COX was enhanced and the expression level of anti-inflammatory cytokine IL-10 was increased. Moreover, when the expression of inflammatory marker iNOS and various inflammatory mediators were analyzed in the state where the inflammatory reaction was promoted by LPS stimulation, the expression level of these mediators was decreased by ALA. These results suggest that ALA suppresses macrophage inflammation.

This study showed that ALA enhances aerobic respiration in various cells. Furthermore, it became clear that administration of ALA decreased the survival rate in cancer cells and suppressed excessive inflammation in MΦ.

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note: Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1 copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).