

論文概要(Thesis Abstract)

○論文題目(Theme)

Application to Breast cancer treatment using transporter controlled
by intracellular Reactive Oxygen Species

(細胞内活性酸素が与えるトランスポーター制御を用いた
乳がん治療への応用)

○指導教員(Supervisor)

人間総合科学研究科 疾患制御医学専攻 原 尚人教授

(所 属) 筑波大学大学院人間総合科学研究科 疾患制御医学専攻

(氏 名) 寺崎 梓

背景：世界の癌患者数は年々増加傾向であり、中でも乳癌は非常に頻度が高く、臓器別では肺癌に次いで第2位であり、罹患率・死亡率ともに増加傾向である。本邦においても乳癌は女性の悪性腫瘍による死亡原因のうち、大腸癌、肺癌、膵癌、胃癌に続いて第5位であり、罹患率・死亡率ともに今後も増加の一途を辿ることが予想されている。原発性乳癌の治療には手術療法、薬物療法（ホルモン療法、化学療法、分子標的薬）、放射線療法といった集学的治療が、転移再発乳癌には薬物療法を中心とした治療に、症状緩和目的に手術や放射線療法といった集学的治療が行われることもある。しかし、化学療法や分子標的薬は、有害事象や金銭的負担も多く、また放射線療法は、各臓器に照射できる線量に限度があるため、継続して続けられる治療ではない。

目的：本研究では、このような臨床上の課題を打開すべく、がんの新たな集学的治療である光線力学療法（PDT）や、温熱療法（HT）に注目し、これらを乳癌治療に応用していくための研究を行った。

（1）マウス乳癌細胞を用いたインドメタシンによる光線力学療法（photodynamic therapy ; PDT）の相乗効果の検討

背景と目的：PDTは、侵襲性の少ない代替的ながん治療法である。これは癌特異的に蓄積する光増感剤を使用し、その後にレーザー照射を行うことで、細胞内にROSを産生させ、それによる腫瘍細胞死を誘発する療法である。我々は以前にプロトポルフィリンIX（PpIX）の前駆体である5-アミノレブリン酸（5-ALA）の、ペプチドトランスポーター1（PEPT1）を介しての細胞内への取り込みが、ミトコンドリア由来の活性酸素（mitROS）によって制御されていることを報告した。本研究では、PDTが新たな乳癌の集学的治療の一つとして期待すべく、転移性レベルの異なる2種類のマウス乳癌細胞を用いたPDT効果を検討した。

対象と方法：高転移性乳癌細胞株4T1E/M3とその親株である4T1Eにインドメタシン（IND）を暴露させ、これらの細胞株のROS生成と5-ALAの取り込み、PpIXの蓄積、トランスポーターの発現、およびレーザー照射によるPDT効果を検討した。

結果：4T1E/M3では、IND暴露後にROSの有意な増加が認められた。さらにIND暴露は、4T1E/M3ではPEPT1のアップレギュレーションを介してALAの細胞内取り込みを増加させたのに対し、4T1EではPEPT1は変化せず、ALAの取り込みも増加させなかった。ALAとINDの併用PDTでは、4T1E/M3でより高い治療効果を認めた。

考察：4T1Eと4T1E/M3を比べると、4T1E/M3の方がROSに敏感であり、ALA輸送に関連したシグナル伝達経路を活性化している可能性が高い

と考えられた。

結論：4T1E/M3 に IND を暴露すると、mitROS が増加し、その後 PEPT1 の発現、5-ALA の取り込み、PpIX の蓄積が増加し、PDT 効果が増強された。以上より、以上より、PDT は高い浸潤性のある転移性乳癌の、副作用の少ない有効な治療法として期待される。

(2) ヒト乳癌細胞を用いた温熱療法による抗癌剤の相乗効果の検討

背景と目的：ハイパーサーミア (HT) は非侵襲的な癌治療法である。41～44°C では正常細胞には損傷は与えず、癌細胞のみ細胞毒性を示すことで知られている。HT は放射線療法や化学療法などと併用されることが多いが、これらの治療法との相乗効果のメカニズムは未だ不明である。42°C の HT では、細胞内のミトコンドリアから ROS が放出される。我々は以前に、mitROS の増加により ATP-binding cassette sub-family G member 2 (ABCG2) の発現が抑制され、癌特異的な PpIX 蓄積が誘導されること報告した。ABCG2 は化学療法耐性タンパク質としても知られており、ドキソルビシン (DOX) の排泄トランスポーターである。そこで、mitROS の増加を介して ABCG2 の発現を低下させることで、HT と DOX の相乗効果が期待できるのではないかと考えた。本研究では、サブタイプの異なる 2 種類のヒト乳癌細胞を用いて、HT に DOX を上乗せすることで乳癌細胞に与える細胞傷害性について検討した。

対象と方法：ヒト乳癌細胞株 MCF-7 と MDA-MB-453 を用いて、HT 群には 42°C で 1 時間 HT を行った。HT 後の ROS の産生を ESR と MitoSOX™ で測定し、HT24 時間後に 0.1、1、10 μM の DOX 暴露させ、細胞生存率を測定した。また HT24 時間後の ABCG2 の発現をウェスタンブロッティングにより分析した。

結果：MCF-7、MDA-MB-453 とともに HT 群で有意に ROS の産生が増加し、ABCG2 の発現は、MDA-MB-453 においては HT 群で有意に低下した。HT24 時間後の DOX 投与では、MCF-7 および MDA-MB-453 いずれも HT 群で DOX の濃度依存性に有意に細胞生存率が低下した。

考察：HT 併用による DOX 投与の相乗効果は、mitROS 増加による ABCG2 発現のダウンレギュレーションにより、細胞内の DOX 濃度が高まった結果と考えられた。

結論：MCF-7 と MDA-MB-453 において、HT は mitROS を産生させ、ABCG2 をダウンレギュレートさせ、DOX の効果を増強させた。以上より、HT 後の DOX 治療は相乗効果が期待できる。