

| | | | |
|---------|--|--------|-------|
| 氏名（本籍） | 高田 智也（茨城県） | | |
| 学位の種類 | 博士（医学） | | |
| 学位記番号 | 博甲第 7046 号 | | |
| 学位授与年月 | 平成26年 3月25日 | | |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項該当 | | |
| 審査研究科 | 人間総合科学研究科 | | |
| 学位論文題目 | Selective accumulation of photosensitizers in glioma with this malignancy through folate-carrier protein SLC46A1 in vitro and specimen (グリオーマの悪性度に依存した SLC46A1 を介する光感受性物質の集積) | | |
| 主査 | 筑波大学教授 | 医学博士 | 正田 純一 |
| 副査 | 筑波大学准教授 | 博士（医学） | 奥村 敏之 |
| 副査 | 筑波大学講師 | 博士（医学） | 田淵 経司 |
| 副査 | 筑波大学助教 | 博士（理学） | 山下 年晴 |

論文の内容の要旨

(目的)

腫瘍が特異的に蛍光を発する機序には、腫瘍細胞におけるポルフィリンの代謝や排泄の異常、もう一つとして、腫瘍細胞が特異的にポルフィリンを取り込む形質を有していることが関与するものと考えられている。しかしながら、この腫瘍特異的ポルフィリン取り込み機序については未だ解明がなされていない。SLC46A1 (Solute Carrier Family 46, Member 1) は Heme の輸送体 Heme Carrier Protein-1 (HCP-1) として発見され、ポルフィリン環を持つ物質の取り込みに関わることや葉酸の輸送体 Proton-Coupled Folate Transporter (PCFT) であることが判明している。SLC46A1 がグリオーマで過剰に発現していると仮定すれば、グリオーマにおけるポルフィリンの取り込みに SLC46A1 が関与している可能性がある。そこで本研究では、SLC46A1 のグリオーマにおける発現を検討し、グリオーマにおける蛍光機序の一端を明らかにすることを目的とした。

(対象と方法)

1. グリオーマ標本の組織切片を作成し、抗 SLC46A1 抗体を用いた免疫組織化学法にて各組織系(悪

性度)での SLC46A1 発現を検討した. また, グリオーマ凍結手術標本における SLC46A1 mRNA の発現を RT-PCR にて検討した.

2. ヒト由来グリオーマ細胞株における SLC46A1 mRNA の発現を RT-PCR にて検討した. 各細胞株に光感受性物質であるヘマトポルフィリン誘導体 (HpD) を同条件で投与し, 蛍光強度 (細胞内 HpD 濃度) を比較検討した. SLC46A1 siRNA 処理による細胞内 HpD 濃度の変化を観察した.
3. グリオーマ標本の組織切片を作成し, 抗 EpoR (erythropoietin receptor) 抗体を用いた免疫組織化学法を行い, EpoR の発現を検討した.
4. ヒトグリオーマ細胞株にて EpoR mRNA の発現を RT-PCR にて解析した. また, Epo 投与後 24 時間培養細胞群と非投与群とで SLC46A1 mRNA 発現をリアルタイム RT-PCR にて比較検討した.

(結果)

グリオーマホルマリン標本の免疫組織化学法での検討では腫瘍部位に一致して SLC46A1 が陽性を示した. SLC46A1 発現の程度は低悪性度と比べ高悪性度のグリオーマで高い傾向が見られた. グリオーマ凍結手術標本にて SLC46A1 mRNA の発現を確認した. HpD 投与後の蛍光強度は SLC46A1 mRNA 発現と相関する結果であった. SLC46A1 ノックダウン細胞で無処理細胞と比べ蛍光の減弱を認めた. また, グリオーマ手術標本では腫瘍細胞に一致した EpoR 陽性を確認した. ヒトグリオーマ細胞株にて EpoR mRNA 発現を確認した. グリオーマ細胞では Epo 投与により SLC46A1 mRNA 発現は非投与の約 16 倍と高値を示した.

(考察)

研究結果より, SLC46A1 mRNA 発現レベルと蛍光強度には正比例の関係が見られたことより, SLC46A1 発現を抑制することでグリオーマ細胞株の蛍光強度は低下したことより考えて, グリオーマ細胞株において SLC46A1 が蛍光機序に関与していることが示唆された. また, グリオーマ細胞株において Epo 投与で非投与と比べ SLC46A1 mRNA 発現が著明に高値を示したことより考えて, グリオーマにおける SLC46A1 発現には Epo/EpoR 系に関与していることが示唆された.

本研究の結論として, グリオーマにおける膜輸送体 SLC46A1 の発現が手術標本とヒトグリオーマ細胞株にて明らかとなり, SLC46A1 はグリオーマにおけるポルフィリン蛍光機序に関与すること, また, グリオーマにおける SLC46A1 発現は Epo/EpoR 系により誘導されることが示唆された.

審査の結果の要旨

(批評)

本論文は, SLC46A1 の発現レベルがグリオーマの悪性度に依存して増加することを明らかにし, グリオーマにおける SLC46A1 の発現は, その蛍光機序の一端を担っていることを明らかにした点は評価出来る. コメントとして, SLC46A1 の発現レベルの評価: トランスポーター発現レベルは転写のみならず, 翻訳レベル, 翻訳後レベルにて調節を受ける. よって, ウェスタン, 免疫染色による膜局在の発現についても検討するべきである. SLC46A1 はトランスポーターファミリーの 1 型である. よって, 同様な輸送機能を有する SLC トランスポーターも発現している可能性があり,

審査様式 2 - 1

この可能性についても議論すべきである。さらに，SLC46A1 は取り込み型トランスポーターであり phase 0 分子である。これらの分子は，核内受容体や転写因子により発現調節を受ける。HIF-1 以外に発現調節に関与する因子の存在について探索していく必要があると考える。

平成 25 年 12 月 25 日，学位論文審査委員会において，審査委員全員出席のもと論文について説明を求め，関連事項について質疑応答を行い，最終試験を行った。その結果，審査委員全員が合格と判定した。

よって，著者は博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。