

氏名	上月 暎浩		
学位の種類	博士 (医学)		
学位記番号	博甲第 9186 号		
学位授与年月	平成 31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	頭蓋内悪性脳腫瘍に対する蛍光物質特異的集積現象の解明と蛍光修飾法の開発		
主査	筑波大学教授	博士 (医学)	佐藤 幸夫
副査	筑波大学教授	博士 (医学)	磯部 智範
副査	筑波大学講師	博士 (理学)	塩見 健輔
副査	筑波大学講師	博士 (医学)	田淵 経司

論文の内容の要旨

上月暎浩氏の博士学位論文は、脳腫瘍の光線力学的治療における蛍光物質集積現象修飾法の効果を検討したものである。その要旨は以下のとおりである。

【目的】悪性神経膠腫は非常に予後不良な疾患で、脳内に浸潤するように広がる。その浸潤領域の広さと脳機能局在のため、全摘出は困難で残存部位からの局所再発が非常に多い。光線力学療法 (Photodynamic Therapy : PDT) は、腫瘍に集積させた光感受性物質に特定波長の光を照射することによって活性酸素の一種である一重項酸素を発生させ、正常細胞を損傷せずに腫瘍細胞特異的な殺傷効果を得る治療法であり、eloquent area に存在する腫瘍に対しても有効な治療となり得る。従来光感受性物質としてポルフィリン骨格を有する化合物が使用されてきた。ポルフィリン化合物の一種であるヘマトポルフィリン (Hp) とその誘導體 (HpD) は癌特異的集積現象を示すが、詳細は諸説あり明らかでない。著者はこの集積現象にヘム輸送担体 HCP-1 (Heme Carrier Protein 1) が関係し、HCP-1 発現に細胞内で生じた活性酸素 (Reactive Oxygen Species : ROS) が関与すると報告してきた。また、胃粘膜細胞を用いた *in vitro*系では、非ステロイド性抗炎症薬であるインドメタシン (IND) の投与が、ミトコンドリア電子伝達系の阻害による ROS と Hp 集積との関係性を *in vitro* および *in vivo* において検討した。

【対象と方法】著者は実験にはラット脳腫瘍細胞 C6 を用いて IND の活性酸素産生・HCP-1 発現量・Hp の細胞内集積を評価している。通常培養群、IND の溶媒として用いた dymethyl sulfoxide 群、IND 群の 3 群とし、各群の細胞内活性酸素の測定は電子スピン共鳴法 (Electron Spin Resonance : ESR) を用いている。また、HCP-1 の発現量解析はウェスタンブロッティング法を用い、Hp の細胞内集積は蛍光強度をプレートリーダーで測定している。ラット脳腫瘍モデルは 1×10^6 cells/ml の細胞懸濁液を脳内に注入することで作成し、2 週間後に通常群と IND 曝露群に分けて Hp 投与後 6 時間で脳腫瘍を摘出して、摘出した組織をホモジナイズし、蛍光強度をプレートリーダーで測定している。

【結果】*In vitro*系において、ESR 測定では IND 曝露群で細胞内活性酸素の上昇が認められ、ウェスタンブロッティング法では IND 曝露群で HCP-1 の発現が亢進し、IND 曝露群では Hp 取り込みが有意に上昇

していることを明らかにした(P<0.05)。In vivo では、IND 曝露群において脳腫瘍部位の蛍光強度が上昇することを明らかにした(P<0.05)。

【考察】ESR による細胞内活性酸素量測定により、インドメタシンはラットグリオーマ細胞においても ROS 産生を誘導することが示唆している。また、IND 投与によって HCP-1 発現が亢進したことから、IND による mitROS 産生量の増加が HCP-1 の発現に寄与したものと考えられる。それに伴い、ポルフィリンの集積が増強されたと考えられる。

in vivo の実験においては、正常脳ではインドメタシン投与によってポルフィリンの増強は得られず、腫瘍特異的に蛍光強度が増強した。胃粘膜細胞を用いた先行研究では、正常細胞においては ROS 産生増加が見られなかった。これは、IND 投与による外因的ストレスに対して正常細胞が防御機構を誘発した結果であると思われる。がん細胞は、恒常的な ROS 産生などのストレスに対して既に防御機構が亢進した状態にあるため、さらなるストレスに対応できず ROS 産生量が上昇したものと考えられる。

IND 投与によってラットグリオーマ細胞において HCP-1 発現が亢進したことから、IND による mitROS 産生量の増加が HCP-1 の発現に寄与したものと考えられる。生体内においてもそれに伴い、ポルフィリンの集積が増強されたと示唆される。

【結論】著者は脳腫瘍細胞の in vitro 系において、IND 投与によって細胞内活性酸素の産生が増強し、HCP-1 の発現亢進を介して Hp の集積が促進されることを明らかにした。また、ラット脳腫瘍モデルを用いた in vivo 系においても IND の投与によって Hp の腫瘍への集積効率が増強されることを明らかにした。

審査の結果の要旨

(批評)

上月暎浩氏の博士学位論文は、脳腫瘍の光線力学的治療における蛍光物質集積現象修飾法の効果を検討したもので脳腫瘍細胞の in vitro 系において、インドメタシン投与によって細胞内活性酸素の産生が増強し、ヘマトポルフィリンの集積が促進されることを明らかにした。また、ラット脳腫瘍モデルを用いた in vivo 系においてもインドメタシンの投与によってヘマトポルフィリンの腫瘍への集積効率が増強されることを明らかにした。比較的汎用されている薬剤を用いて光線力学的療法の効果を増強できる可能性があり、臨床応用が期待できる研究と考えられる。

平成 31 年 1 月 10 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。