

氏名	寺崎 正彦
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	博甲第 9188 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	Acetic acid is an oxidative stressor in gastric cancer cells (酢酸は胃癌細胞に対して酸化ストレスを惹起させる)

主査	筑波大学教授	博士 (医学)	西山 博之
副査	筑波大学教授	博士 (理学)	入江 賢児
副査	筑波大学准教授	博士 (医学)	坂東 裕子
副査	筑波大学准教授	博士 (医学)	藤澤 康弘

論文の内容の要旨

寺崎正彦氏の博士学位論文は、胃癌細胞における酢酸の酸化ストレスを介した抗腫瘍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。

第1章では、著者は本論文の研究背景として胃癌の現状について概説し、癌細胞は有酸素下においてもミトコンドリアの酸化的リン酸化よりも解糖系で ATP を産生するという Warburg 効果について述べ、さらに癌細胞は選択的に酢酸を取り込みアセチル CoA に代謝されるという癌特異的な酢酸代謝について述べている。さらに、その代謝特性を利用した癌治療法について概説している。次に先行研究としての酢酸による癌細胞の選択的傷害について概観し、その不明であった機序を明らかにするため、癌特異的な代謝である Warburg 効果と酢酸代謝を踏まえ、癌細胞に選択的に取り込まれた酢酸がアセチル CoA となり、TCA 回路を回転させることで活性酸素が産生されるという点に着目し、同じ遺伝子背景を持つ胃粘膜の正常細胞と癌細胞を用いて研究を行ったと述べている。

第2章では、著者は酢酸がもたらす抗腫瘍効果について酸化ストレスに着目し、ラット由来胃粘膜正常細胞 (RGM1) とその癌様変異株 (RGK1)、及びそれぞれに蛍光タンパク遺伝子を導入した RGM-GFP 細胞、RGK-KO 細胞を用いて正常細胞と癌細胞のそれぞれ独立した系と生理的な環境により近い状態である共培養系での検討を行っている。さらに酢酸の癌選択的取り込みと活性酸素産生に関して、酢酸の取り込みに関与するトランスポーターである Monocarboxylate transporter 1 ; MCT1 に着目し、その癌選択的な酢酸の取り込み及び細胞傷害について明らかにしている。

実験1では RGM1 細胞と RGK1 細胞へそれぞれ酢酸を 24 時間曝露したときの細胞毒性試験が行われており、酢酸 2 μ M 及び 5 μ M の曝露は有意差をもって癌選択的な細胞毒性を認めている。実験2では RGM-GFP 細胞と RGK-KO 細胞の共培養系を用い、塩酸と酢酸をそれぞれ曝露して培養したものを比較している。塩酸処理下では、RGM-GFP および RGK-KO 細胞の細胞面積は時間とともに増加を認めたが、72 時間を超えると RGM-GFP の面積は減少し、正常細胞/癌細胞増殖比も経時的に減少を認めている。対照的に、2 及び 5 μ M の酢酸は癌細胞の増殖を阻害したが、正常細胞は増殖を続けていた。1 μ M 未満の濃度で使用した場合、酢酸は劇的な効果は示さず、10 μ M を超えると 48 時間以内に細胞死が

引き起こされていた。正常細胞/癌細胞増殖比は、5 μ M 酢酸に曝露した後 120 時間で増加し、この増加は 2 μ M または他の濃度では見られず、5 μ M のみで認められた。このことから 5 μ M の酢酸投与は細胞競合により正常細胞が癌細胞を排除するという結果となり、癌選択的細胞毒性のための最適濃度であったと示されている。実験 3 では放射性同位元素ラベルした酢酸を正常細胞と癌細胞にそれぞれ 24 時間曝露したときの細胞内への取り込みについて液体シンチレーションカウンターを用いて測定しているが、酢酸が癌細胞へ有意に多く取り込まれることが認められている。さらに酢酸の取り込みに関与する MCT1 の発現についての Western blotting 法での検討では、酢酸曝露により正常細胞に比べ癌細胞において強く発現が認められていることから、酢酸は MCT1 の発現を誘導することによって細胞内へ取り込まれることを示している。実験 4 では ESR を用いて活性酸素産生量を測定しており、酢酸曝露による活性酸素産生が正常細胞に比べ癌細胞において有意に増加していることが認められている。Western blotting 法を用いた caspase 9 の測定ではその活性酸素刺激により癌細胞選択的に cleaved caspase 9 の発現が増強し、癌細胞のアポトーシスをもたらすことを示している。実験 5 では癌細胞に酢酸を単独で曝露したものと酢酸と抗酸化剤 (N-Acetyl-L-cysteine ;NAC) を併用し曝露したものを Diphenyl-1-pyrenylphosphine (DPPP)を用いて細胞の脂質過酸化を測定しており、酢酸単独を曝露したもので脂質過酸化を生じ、その効果は抗酸化剤を併用することで抑制されることが示されており、酢酸が酸化ストレスを介し脂質過酸化を誘導することが示されている。

以上から、5 μ M の酢酸曝露は MCT1 を介して癌細胞選択的に細胞内へ取り込まれ、活性酸素産生を増加させ酸化ストレスによりアポトーシスを生じ、癌細胞選択的な細胞傷害をもたらすことを示している。

第 3 章では著者は総括として、癌特異的な代謝経路により癌細胞に選択的に取り込まれた酢酸が活性酸素産生増加を引き起こし、酸化ストレス的に癌選択的な細胞傷害をもたらすという結果をさらに発展させ、活性酸素と MCT1 の発現制御について、さらには酢酸が活性酸素産生を増加させるという現象を利用応用した抗癌剤や光線力学療法効果増強について検討を進めると述べている。

審査の結果の要旨

(批評)

本研究は、新規治療法の開発が急務である胃癌を対象として、酢酸の酸化ストレスを介した抗腫瘍効果を明らかにした点が高く評価される。特に活性酸素による酸化ストレスが薬剤の取り込み及び排泄トランスポーターの発現に深く関与しているという分子機序も見出しており、新たな治療戦略の確立の基盤構築に役立ち、臨床応用への可能性が強く期待される。

平成 31 年 1 月 8 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。