HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	がん細胞におけるミトコンドリア由来活性酸素を介した3-Methyl pyruvateによる放射線感受性の増強［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	西田, 直哉
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第11283号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/55307
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Naoya_Nishida_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）　　氏名：西田直哉

審査委員

主査　教授　稲波　修
副査　教授　石塚真由美
副査　准教授　佐藤耕太
副査　准教授　山盛　徹

学位論文題名
がん細胞におけるミトコンドリア由来活性酸素を介した
３-Methyl pyruvate による放射線感受性の増強

近年，がんの放射線療法は強度変調照射装置のような照射機器の開発や，陽子線や重粒子線のような線量分布の良い放射線を用いることによって正常組織を温存できる優れた根治的な治療法の１つとなっている。一方で，放射線抵抗性を示すがん組織の場合は放射線と違う作用を持つ薬剤との併用による殺細胞効果の増強を期待した治療がしばしば行われている。これら薬剤の多くは DNA 合成阻害作用，DNA 損傷の増感作用，DNA 修復酵素の阻害作用あるいは DNA 修復のための時間を与えるチェックポイント阻害作用などの DNA 関連の制御系を標的としたものが主である。しかしながら，最近，エネルギー生成にとって重要な細胞小器官であるミトコンドリアを標的とした薬剤を用いることにより，アポトーシス誘導因子であるチトクローム C の細胞質遊離や細胞障害を与える活性酸素種（ROS）を増加させて細胞死を惹起し，がん治療に結びつける研究が注目を集めている。がん細胞のエネルギー代謝の特徴として酸素存在下でも解糖系が優位で，ミトコンドリア電子伝達系は休止状態にあることが知られている（ワールブルグ効果）。 この休止期のミトコンドリアを活性化させて，がん治療を進めようという観点から，近年，ジクロロ酢酸（DCA）を用いた研究が既に他の研究者によって進められている。本学位申請者西田直哉氏も卒業論文とその後の実験で，この DCA 処理で培養細胞系ならびに移植腫瘍モデル系でもがん細胞の放射線感受性を増大させることができることを示している。しかし，この DCA には細胞毒性が高いと言う欠点を持つことと，また，作用機構についてもその詳細は十分明らかにされていないのが現状である。そこで，本学位論文では毒性の少ないミトコンドリア標的薬として３メチルピルビン酸（MP）を用い，放射線増感作用とその機序を明らかにする目的で研究を行った。

本研究ではがん細胞としてヒト肺腺がん A549 細胞とマウス口腔扁平上皮がん SCCVII 細胞を用いている。薬剤のみでは毒性をほとんど示さない MP の処理濃度で，両がん細胞において強い放射線増感作用を起こすことがコロニー形成法により明

らかとなった。しかし，MP によるこの放射線増感作用には放射線誘発アポトーシスの増強は関与していなかった。また，両がん細胞において，照射のみでミトコンドリアの膜電位の増強と ATP の増強ならびにミトコンドリア由来 ROS の有意な上昇が起きたが，MP 処理をすると，これらの放射線で活性化したミトコンドリア代謝関連事象が，更に強い増強を起こすことも示された。次に，この MP 処理によるコロニー形成法で見られた放射線増感作用にミトコンドリア由来 ROS の関与があるかどうか明らかにする目的で，ROS やフリーラジカルを消去する作用を持つビタミン C を用いて検討した。ビタミン C を照射後に処理すると，A549 細胞では MP による放射線増感作用のほとんどが消失し，SCCVII 細胞の場合には MP による放射線増感の一部が抑制することが示された。このことはミトコンドリア由来の ROS が MP 処理で増強し，細胞障害を引き起こし，少なくともその一部が原因で放射線増感作用を起こしたものと結論づけられた。ちなみに本研究では，非がん細胞であるチャイニーズハムスター線維芽 V79 細胞においては，がん細胞で観察された MP による放射線増感作用を起こさない事も示している。

今までの細胞内 ROS の役割に関する他の研究者の報告において，がん細胞は正常細胞に比べて，一般的に細胞内 ROS レベルが高いこと，また，細胞増殖・分化にはある程度の低濃度の細胞内 ROS レベルが必要だが，ある高い ROS レベル以上になると修復が追いつかずに細胞死が引き起こされるという，所謂“ROS 閾値理論”が広く提唱されている。本学位論文の研究成果は，この理論を実験的に非常によく裏付けたものであると言える。すなわち，本研究での観察は，既に正常細胞より高いがん細胞の ROS レベルがミトコンドリア代謝を活性化させることで上昇し，正常細胞よりがん細胞の方が早く細胞死を起こす細胞内 ROS 閾値を超え，がん細胞に優先的に細胞死が起き，放射線増感が見られたものと解釈することができる。従って，本研究で明らかにした結果は今までの DNA を標的とした旧来の薬剤による放射線増感ではなく，最近注目されている新しいミトコンドリアエネルギー代謝を標的とした放射線増感剤の開発の可能性を示した重要な研究であると認められる。よって，審査委員一同は，上記学位論文提出者西田直哉氏の学位論文は，北海道大学大学院獣医学研究科規程第６条の規定による本研究科の行う学位論文の審査等に合格と認めた。