

令和 2 年 9 月

木下英人 学位論文審査要旨

主 査 汐 田 剛 史
副主査 藤 原 義 之
同 磯 本 一

主論文

Oligopeptide transporter-1 is associated with fluorescence intensity of 5-aminolevulinic acid-based photodynamic diagnosis in pancreatic cancer cells
(オリゴペプチド輸送体-1は膵癌細胞において5-アミノレブリン酸による光線力学的診断の蛍光強度と関連する)

(著者：木下英人、神田努、高田知朗、杉原誉明、前ゆかり、山下太郎、斧山巧、武田洋平、磯本一)

令和2年 Yonago Acta Medica 掲載予定

参考論文

1. Low-density lipoprotein receptor expression is involved in the beneficial effect of photodynamic therapy using talaporfin sodium on gastric cancer cells
(低比重リポタンパク質受容体の発現は胃癌細胞に対するタラポルフィンナトリウムを用いた光線力学的療法の有益な効果に関与している)

(著者：神田努、杉原誉明、高田知朗、前ゆかり、木下英人、坂口琢紀、長谷川隆、菓裕貴、池淵雄一郎、村上孝、磯本一)

平成31年 Oncology Letters 17巻 3261頁～3266頁

学位論文要旨

Oligopeptide transporter-1 is associated with fluorescence intensity of 5-aminolevulinic acid-based photodynamic diagnosis in pancreatic cancer cells

(オリゴペプチド輸送体-1は膵癌細胞において5-アミノレブリン酸による光線力学的診断の蛍光強度と関連する)

膵癌は、世界の癌関連死の主因の一つである。膵癌の治療においては切除が唯一の根治的治療である。しかし、膵癌の早期発見は困難であるため、根治切除不能な進行癌あるいは他臓器転移の症例が多いのが実情である。したがって、早期に膵癌を診断するための新しい診断法を開発する必要がある。

光線力学的診断 (PDD) は、悪性腫瘍へ選択的に集積する光感受性物質を利用した光学イメージング技術である。5-アミノレブリン酸 (ALA) は、ヘム合成経路において、光感受性物質であるプロトポルフィリンIX (PpIX) の前駆体であり、外因性のALAにより細胞内のPpIX濃度が上昇し、腫瘍部分において、約635 nmの波長での赤色蛍光強度が増加する。この技術は、膀胱癌および脳腫瘍の診断に応用されている。しかしながら、膵癌の分野におけるALA-PDDは確立されていない。

ヘムの合成経路は、5-アミノレブリン酸合成酵素 (ALAS)、ポルホビリノーゲンシンターゼ (PBGS)、ポルホビリノーゲンデアミナーゼ (PBGD)、ウロポルフィリノーゲンⅢ合成酵素 (UROS)、ウロポルフィリノーゲンⅢデカルボキシラーゼ (UROD)、コプロポルフィリノーゲンオキシダーゼ (CPOX)、プロトポルフィリノーゲンオキシダーゼ (PPOX) およびフェロケラターゼ (FECH) の8つの酵素からなる。加えて、オリゴペプチドトランスポーター1 (PEPT-1)、ATP結合カセット輸送体であるABCB6、ABCG2などの膜輸送体もヘム合成経路に関与する。外因性のALAは、PEPT-1を介して細胞内へ取り込まれ、ヘム生合成の最終代謝産物であるPpIXへと代謝される。ALA-PDDにおいてPpIXは非常に重要であるにも関わらず、癌細胞におけるこの代謝産物の蓄積のメカニズムは依然として不明である。したがって、本研究では、ヒト膵癌細胞におけるヘム生合成経路に関連する酵素および膜輸送体に着目し、蛍光に影響を与える分子メカニズムを明らかにすることを目的とした。

方法

本研究では、ヒト膵臓癌細胞株であるMIA PaCa-2、AsPC-1、BxPC-3、SUIT-2、KP-4、KP-3L、

TYPK-1、Capan-1、PANC-1を使用した。それぞれの細胞株について、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（RT-PCR）とウエスタンブロット解析により各種酵素および膜輸送体の発現を調べるとともに、ALA投与による蛍光を観察した。

結 果

RT-PCRにおいて、ヘム合成酵素であるPBGS、PBGD、UROS、UROD、CPOX、PPOX、FECHのmRNA発現の差は各細胞間でわずかであった。膜輸送体であるPEPT-1およびABCG2は、MIA PaCa-2と比較してAsPC-1において高発現していた。ウエスタンブロット解析による検討では、PEPT-1はMIA PaCa-2と比較してAsPC-1において高発現していた。

さらに、AsPC-1、MIA PaCa-2について、外因性ALAによる蛍光性を検討した。それぞれの細胞に0.25 mMのALAを投与し、投与後1時間、2時間、4時間で蛍光性を比較したところ、PEPT-1のより高い発現を有するAsPC-1は、MIA PaCa-2と比較して、より強くかつ迅速に蛍光の誘導を示した。また、PEPT-1を阻害することで、その蛍光は低下した。

考 察

本研究では、ALAの細胞内への取り込みに関与する膜輸送体であるPEPT-1がAsPC-1で高発現し、AsPC-1ではALAの投与後に強い蛍光性を有することを示した。PEPT-1が膵癌細胞におけるALA誘発蛍光強度と関連し、重要な役割を担っていることを示唆している。

ALA-PDDは、癌を検出するために有用な診断法で、膀胱、脳、胃の腫瘍の検出に応用されている。ALA-PDDは、ヒト膵癌患者において腹腔鏡観察での腹膜播種検出に有用であることが報告されているが、そのメカニズムは完全には解明されていない。膵癌の診断は、超音波内視鏡下穿刺吸引法による細胞、組織学的診断によりなされることが多く、本研究で得られた知見である膵癌細胞におけるALA-PDDの機序は、膵癌の早期発見や正確な診断に寄与することが期待される。

結 論

膵臓癌細胞におけるALA-PDDの機構についての新たな知見を提示した。これらの知見は、膵癌の新たな診断法であるALA-PDDの開発に役立つ可能性がある。