

学 位 論 文 要 約

Antitumor effect of 5-Aminolevulinic acid through ferroptosis in esophageal squamous cell carcinoma

(食道扁平上皮癌におけるフェロトーシスを介した5-アミノレブリン酸の抗腫瘍効果)

(著者：宍戸裕二、網崎正孝、松見吉朗、矢倉はるな、中山祐二、宮内亘、宮谷幸造、松永知之、花木武彦、木原恭一、山本学、徳安成郎、高野周一、坂本照尚、本城総一郎、長谷川利路、藤原義之)

令和3年 Annals of Surgical Oncology 掲載予定

5-アミノレブリン酸 (5-ALA) は生体内に存在する天然のアミノ酸で、その腫瘍特異的な代謝経路と光感受性を利用して様々な癌種における光線力学診断・光線力学療法として臨床で広く使用されている。一方で、非アポトーシス性の脂質酸化ストレスによる細胞死であるフェロトーシスが薬剤耐性癌細胞に効果的な治療経路として近年注目されている。また、フェロトーシスはグルタチオンペルオキシダーゼ4 (GPX4) の抑制やヘムオキシゲナーゼ1 (HMOX1) の過剰発現により誘導されることが知られている。本研究では5-ALAが食道扁平上皮癌に対してGPX4やHMOX1を介してフェロトーシスを誘導し抗腫瘍効果を発揮することを証明し、食道癌の新たな治療薬となる可能性を精査した。

方 法

食道扁平上皮癌に対して根治的食道切除術を施行した97人の患者の切除検体において、食道癌組織中のGPX4およびHMOX1の発現と予後との関連を検討した。食道扁平上皮癌細胞株KYSE30に5-ALAを投与してRNAマイクロアレイ解析を行い、またリアルタイムPCRおよびウェスタンブロット解析によりGPX4、HMOX1のRNA発現、蛋白発現を評価した。さらに、5-ALA投与による癌細胞株の抗腫瘍効果について検討し、フェロトーシス阻害剤や脂質酸化ストレス試薬を用いてフェロトーシスの誘導について評価した。ヌードマウスを用いた異種移植実験において、5-ALA投与による腫瘍縮小効果およびGPX4、HMOX1発現について検討した。

結 果

食道扁平上皮癌術後検体を用いた免疫組織化学による検討により、GPX4発現は41.2%、HMOX1発現は47.4%で陽性と判定された。単変量解析および多変量解析によりGPX4陽性およびHMOX1陰性が食道癌患者の全生存期間における独立した予後不良因子であることが判明

した。

KYSE30に5-ALAを投与したマイクロRNA解析の結果、最も誘導されている経路の一つにフェロトーシスがあることが明らかとなり、GPX4が抑制、HMOX1が過剰発現していた。また、リアルタイムPCRの結果、5-ALA投与により有意にGPX4発現が抑制、HMOX1が過剰発現しており、ウェスタンブロットによる蛋白発現も同様の結果であった。さらに、食道扁平上皮癌細胞株に加えて、胃癌細胞株、肝細胞癌細胞株においても5-ALA投与により有意な抗腫瘍効果を認め、この抗腫瘍効果はフェロトーシス阻害剤により抑制されていた。また、5-ALA投与により脂質酸化ストレスが生じていることも判明した。

ヌードマウスにKYSE30を皮下移植し5-ALAを連日投与したところ、コントロール群と比較し5-ALA投与群で有意に腫瘍縮小効果を認め、また5-ALA投与群の腫瘍切片の免疫組織化学染色ではGPX4が抑制されHMOX1が過剰発現していた。

考 察

本研究は、5-ALAがGPX4やHMOX1を介して食道癌細胞にフェロトーシスを誘導し抗腫瘍効果を発揮することを証明した最初の報告となった。まず、食道扁平上皮癌術後検体を用いた免疫組織化学にてGPX4やHMOX1が予後因子であったことから、これらは食道癌の治療標的となり得ることが示唆された。GPX4の抑制はフェロトーシスを誘導する上で最も重要であり、またHMOX1の過剰発現がフェロトーシスを誘導することも報告されている。我々は、GPX4やHMOX1を介して食道癌に対してフェロトーシスを誘導し得る化合物として5-ALAに注目した。実際、食道癌細胞に5-ALAを投与するとGPX4が抑制、HMOX1が過剰発現され、フェロトーシスが生じていることが証明された。5-ALAは既に光線力学診断・光線力学療法として広く癌臨床で応用されており、その安全性は担保されている。また、近年フェロトーシスは薬剤耐性癌細胞に対する有効な治療経路としても注目されており、光を用いずに5-ALAが癌細胞に対してフェロトーシスを誘導し抗腫瘍効果を発揮すること証明した本研究の成果は、5-ALAが新たな食道癌治療薬となり得る可能性を見出すものである。

結 論

5-ALAが食道扁平上皮癌に対してGPX4やHMOX1を介してフェロトーシスを誘導し抗腫瘍効果を発揮することを証明した。今後、5-ALAによるフェロトーシス誘導を利用したさらなる臨床応用が期待される。