

(様式4)

## 学位論文の内容の要旨

飯島 岬 印

(学位論文のタイトル)

Development of single nanometer-sized ultra fine oxygen bubbles to overcome the hypoxia-induced resistance to radiation therapy via the suppression of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$

(ウルトラファイン酸素ナノバブルはhypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ の抑制を介し低酸素状態に起因する放射線抵抗性を克服する)

(学位論文の要旨)

## 【背景】

がん診療における放射線療法の発展は、肺がん患者の生命予後の改善に大きく寄与してきた。しかし、放射線治療に対する抵抗性や、放射線障害性肺疾患 (RILD) を含むしばしば致命的な副作用を誘発することも報告されている。副作用を惹起することなく放射線抵抗性を改善することは肺がん患者にとって重要な課題と言える。

Hypoxia Inducible Factor-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ )は腫瘍内の低酸素環境下で活性化し、放射線抵抗性を誘導する転写因子として報告されている。既存の報告ではHIF-1 $\alpha$ 阻害剤によって放射線抵抗性を克服しようとする試みもなされている。しかしながらHIF-1 $\alpha$ 阻害剤による非がん細胞への副作用が臨床応用への大きな障害となっている。本研究では、研究では、新規に開発したシングルナノメートルサイズの酸素ナノバブル水を用いることで低酸素誘導性の放射線抵抗性を克服できるかを癌細胞株を用いて検証した。

## 【材料および方法】

## 【材料および方法】

酸素ナノバブル水の作成及び測定：シングル-ナノメートルの範囲でナノバブルを生じるために新しく水撃法を採用した $\Sigma$ PM-5装置を用いて酸素ナノバブル水を作成した。ナノバブル水中の気泡のサイズ及び濃度はクライオ電子顕微鏡を用いて計測した。

低酸素環境下における酸素ナノバブル水のHIF-1 $\alpha$ 発現に及ぼす影響：肺扁平上皮癌細胞株であるEBC-1、及び乳がん細胞株であるMDA-MB-231を用いて実験を行った。ナノバブル水で作成した液体培地での培養 (酸素ナノバブル培地群)と原水で作成した液体培地での培養 (コントロール培地群)との2群をそれぞれ低酸素( $O_2=1\%$ )環境下及び通常酸素( $O_2=21\%$ )環境下で培養し、HIF-1 $\alpha$ 発現をWestern Blot法を用いて評価した。

低酸素環境下における酸素ナノバブル水の放射線感受性に及ぼす影響：EBC-1、MDA-MB-231を用いて低酸素環境下での酸素ナノバブル培地群とコントロール培地群における放射線抵抗性の変化をCCK8 assay, colony formation assayで評価した。放射線照射は0, 2, 6, 10, 14Gyで施行した。

通常酸素環境下における酸素ナノバブル水のがん細胞及び非がん細胞の放射線感受性に及ぼす影

響： EBC-1、MDA-MB-231、及びヒト正常気道細胞であるBEAS-2Bを用いて実験を行った。通常酸素下での酸素ナノバブル培地群とコントロール培地群における放射線抵抗性の変化をCCK8 assay, colony formation assayで評価した。

#### 【結果】

クライオ電子顕微鏡を用いた計測により酸素ナノバブルは2-3nmの粒子としてその存在が確認でき、そのナノバブル密度は $2 \times 10^{18}$  particles/mLであることが明らかとなった。

低酸素条件下における酸素ナノバブル水のHIF-1 $\alpha$ 発現に及ぼす影響：低酸素培養下で培養した細胞で発現誘導されるHIF-1 $\alpha$ 蓄積が酸素ナノバブル培地群において抑制された。

低酸素条件下における酸素ナノバブル水の放射線感受性に及ぼす影響：低酸素誘導性の放射線抵抗性が酸素ナノバブル培地群において有意に改善していた (CCK8 assay, colony formation assay)。

通常酸素条件下における培養ではコントロール培地群、酸素ナノバブル培地群の間に細胞増殖能、及び放射線感受性の有意な差は認められなかった。

#### 【考察】

酸素ナノバブルを用いた培地で培養されたがん細胞はHIF-1 $\alpha$ の発現が抑制され、結果として低酸素に起因する放射線治療抵抗性が抑制されたと考えられた。また、通常酸素条件下での培養における酸素ナノバブル水は正常細胞、がん細胞共に細胞生存、放射線感受性に影響しなかったことから、細胞毒性や正常組織への照射による副作用を惹起するものではないことが推察される。

#### 【結論】

酸素ナノバブルは正常細胞への副作用を伴うことなくhypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ の抑制を介した低酸素状態に起因する放射線抵抗性を克服する新しいツールとなり得る可能性を示すことができた。