

論 文 内 容 要 旨

題目 Elevated cellular PpIX potentiates sonodynamic therapy in a mouse glioma stem cell-bearing glioma model by downregulating the Akt/Nf- κ B/MDR1 pathway

(Akt/NF- κ B/MDR1 経路の抑制による脳腫瘍細胞内の PpIX の上昇はグリオーマ幹細胞移植脳腫瘍モデルマウスの超音波力学療法の効果を増強する)

著者 Kenji Shono, Yoshifumi Mizobuchi, Izumi Yamaguchi, Kohei Nakajima, Yuri Fujiwara, Toshitaka Fujihara, Keiko Kitazato, Kazuhito Matsuzaki, Yoshihiro Uto, Oltea Sampetean, Hideyuki Saya, Yasushi Takagi

令和3年7月23日発行 SCIENTIFIC REPORTS 第11巻第1号
15105 ページに発表済

内容要旨

背景: Glioblastoma (GBM) は最もヒト脳腫瘍の中で最も頻度が高く、高い再発率を示す予後不良の疾患である。手術療法、化学療法、放射線療法に加え、PD-L1 阻害薬などの新規の治療も試みられているが、浸潤性が高く治療抵抗性を示す GBM に対する効果は不十分であるため、予後を改善させる新規治療法の開発が望まれている。

超音波力学療法 (sonodynamic therapy: SDT) はがんに対する非侵襲的な治療法として注目されている。5-aminolevulinic acid (5-ALA) を投与すると、腫瘍細胞のミトコンドリア内に取り込まれ、音波増感剤としての作用を有する protoporphyrin IX (PpIX) に変換される。これに超音波を照射すると、reactive oxygen species (ROS) を生じ、より深部に浸潤した腫瘍細胞に対しても抗腫瘍効果を発揮すると考えられているが、SDT のみでは治療効果は限定的である。ATP Binding Cassette (ABC) トランスポーターの一つである MDR1 は多種多様な化学構造の分子を細胞外へと輸送する多剤排出トランスポーターであり、共通性の高いアミノ酸配列を示す ATP 加水分解酵素活性を担う領域を持つ膜貫通型タンパク質である。ATP を自ら加水分解して得られるエネルギーを利用して化

合物を能動輸送する MDR1 は薬物排泄ポンプとして作用し、GBM の治療抵抗性の原因の一つと考えられている。

これまでに GBM 細胞移植マウスにおいて、Ad-DKK3 を用いて Akt/NF- κ B 経路を抑制すると、MDR1 の発現が抑制されることを見出している。また、浸潤性の glioma stem cells(GSCs) を移植した脳腫瘍モデルマウスに対し、選択的 cyclooxygenase(Cox2) 阻害剤である celecoxib を用いた治療でも抗腫瘍効果を認め、Akt/NF- κ B 経路の抑制との関連性を示している。そこで、celecoxib により、Akt/NF- κ B 経路を介した MDR1 発現を抑制できれば、腫瘍内の PpIX 濃度を上昇させ、SDT による抗腫瘍効果を増強できる可能性があると考え、本研究行い以下の結果を得た。

結果：

1. GSCs 細胞系において 5-ALA と SDT を併用する殺細胞効果が増強された。
2. GSCs 移植マウス脳腫瘍モデルにおいて、脳腫瘍体積増大に対して SDT による抑制効果が認められ、cCasp9 を介した内因性アポトーシス誘導作用を認めたが、SDT 単独では延命には至らなかった。
3. ヒト glioblastoma および GSCs 移植マウスの脳腫瘍組織の免疫組織学的解析において、Cox-2 および MDR1 の過剰発現を認めた。
4. GSCs 細胞に 60 μ M celecoxib (IC₅₀) および 1 μ M の 5-ALA を添加すると、腫瘍内 MDR1 発現低下による PpIX 濃度の上昇を認めた。MDR1 阻害剤 valspodar を用いて、MDR1 の発現抑制作用を確認すると共に、SDT との併用による GSCs の生存抑制増強作用を認めた。
5. GSCs 移植マウス脳腫瘍において、celecoxib 投薬群で PpIX 濃度は有意に上昇し、さらに SDT 併用すると、cCasp-8 の発現と共に SDT 単独に比較して cCasp-9、cCasp-3、PARP の発現増強がみられ、内因性及び外因性アポトーシス誘導の亢進が推察された。腫瘍内の PpIX 濃度上昇は SDT の抗腫瘍効果増強に寄与することが示唆された。
6. GSCs 移植脳腫瘍においても、celecoxib 投与により Akt2、p-Akt、pNF- κ B、MDR1 の発現が抑制された。

上記の結果より、SDT 単独治療に較べて Celecoxib 併用による SDT は、GSCs 細胞系および GSCs 移植モデルマウスにおいても抗腫瘍効果を増強し、この効果に Akt/NF- κ B 経路の抑制が寄与していると考えられた。本研究から得られた知見は GBM に対する有望な治療法としての SDT と他の薬剤との併用療法や経頭蓋的に照射可能な超音波装置の開発などの発展に寄与すると思われる。

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 1512 号	氏名	庄野 健児
審査委員	主査 島田 光生 副査 原田 雅史 副査 片桐 豊雅		

題目 Elevated cellular PpIX potentiates sonodynamic therapy in a mouse glioma stem cell-bearing glioma model by downregulating the Akt/NF- κ B/MDR1 pathway
(Akt/NF- κ B/MDR1 経路の抑制による脳腫瘍細胞内の PpIX の上昇はグリオーマ幹細胞移植脳腫瘍モデルマウスの超音波力学療法の効果を増強する)

著者 Kenji Shono, Yoshifumi Mizobuchi, Izumi Yamaguchi, Kohei Nakajima, Yuri Fujiwara, Toshitaka Fujihara, Keiko Kitazato, Kazuhito Matsuzaki, Yoshihiro Uto, Oltea Sampetean, Hideyuki Saya, Yasushi Takagi
令和3年7月23日発行 SCIENTIFIC REPORTS 第11巻第1号
15105 ページに発表済
(主任教授 高木 康志)

要旨 膠芽腫は悪性脳腫瘍の中で最も頻度および再発率が高く、予後不良である。浸潤性が強く、手術、化学療法、放射線療法や抗体医薬などに治療抵抗性を示すため、新たな治療法の開発が切望されている。膠芽腫の手術時に使用される 5-ALA は腫瘍細胞のミトコンドリア内に取り込まれ protoporphyrin IX (PpIX) として発光する。これに超音波を照射する超音波力学療法(sonodynamic therapy, SDT)は、がんに対する非侵襲的な治療法として注目されている。
申請者らは、膠芽腫の治療抵抗性因子である multidrug resistance protein 1 (MDR1) の抑制により腫瘍細胞内の PpIX 濃度が上昇し、

SDTによる抗腫瘍効果が増強すると考え、浸潤性の高いマウス由来グリオーマ幹細胞(glioma stem cells, GSCs)およびGSCsを移植した脳腫瘍モデル用いて、SDTの抗腫瘍効果とその作用機序を解析した。

得られた結果は以下の如くである。

1. GSCs および GSCs 移植脳腫瘍モデルマウスにおいて、SDT 単独の効果は限定的であった。
2. ヒト膠芽腫および GSCs 移植脳腫瘍組織において、正常脳組織より高い COX-2 および MDR1 の発現を認めた。
3. GSCs に COX-2 阻害剤あるいは MDR1 阻害剤を添加すると、MDR1 の発現低下と関連して、5-ALA 添加後の細胞内 PpIX 濃度が上昇し、SDT による殺細胞効果が増強された。
4. GSCs に NF- κ B 阻害剤を添加すると、リン酸化 I- κ B、NF- κ B および MDR1 の発現低下がみられた。
5. GSCs 移植脳腫瘍マウスへの COX-2 阻害剤投与により、腫瘍内 Akt2、リン酸化 Akt、NF- κ B および MDR1 の発現低下、PpIX 濃度の増加、SDT による内因性・外因性アポトーシス誘導作用の増強ならびに生存期間の延長が認められた。

以上、SDT 単独での延命効果は限定的だが、薬剤により MDR1 の発現を低下させ腫瘍細胞内での PpIX 濃度を上昇させることにより、SDT の効果を増強できる可能性が示された。

本研究は、膠芽腫における新たな治療法と治療標的の可能性を明らかにしており、その臨床的意義は大きく、学位授与に値すると判定した。