




## 学位論文審査の結果の要旨

平成 28年 5月 31日

審査委員	主 査	星野 克明 		
	副 主 査	上田 夏生 		
	副 主 査	和田 健司 		
願 出 者	専攻	分子制御医学	部門	病態制御医学
	学籍番号	11D740	氏名	林田 有史
論 文 題 目	Invention of a novel photodynamic therapy for tumors using a photosensitizing PI3K inhibitor			
学位論文の審査結果	<input checked="" type="radio"/> 合格	・	<input type="radio"/> 不合格	(該当するものを○で囲むこと。)

〔 要 旨 〕

【背景および目的】

光線力学療法 (photodynamic therapy; PDT) は、光感受性物質を生体内に投与し標的とする組織に集積させた後、特定波長の光を照射することにより、光と光感受性物質 (photosensitizer) の反応で産生される活性酸素 (reactive oxygen species ; ROS) で標的細胞を障害する治療法である。腫瘍領域においては、腫瘍に親和性のある光感受性物質が用いられる。腫瘍親和性光感受性物質は腫瘍に多く集積し正常組織に集積しにくいいため、正常細胞への障害が少なく、光照射部位にのみ細胞障害を発生させるためより選択的な治療が可能であると考えられている。

XL147 は、ATP 競合により腫瘍細胞に多く発現する class I phosphoinositide 3-kinase (PI3K) を阻害する新規抗がん剤である。我々は、XL147 を PI3K 阻害剤として用い前立腺がん由来 PC3 細胞株のライブイメージング観察を行っている際に、XL147 存在下で青色光 (430 nm) を照射すると数分で細胞死にいたることを偶然発見した。このことから、XL147 のがん治療に向けた PDT 応用を着想した。

本研究では、XL147 の光活性化による、がん細胞に対する障害性を明らかにし、その機序を解明することによって、抗がん剤である XL147 が PDT における photosensitizer として有用か否かを検討した。

【方法】

前立腺がん由来 PC3 細胞株を用いて、0.2-2 μM の XL147 存在下で 430 nm の光照射を行いながら、15 秒毎に蛍光タイムラプス画像を取得し、その形態変化について動画観察解析を行った。本研究では、細胞障害の初期に出現する bleb (細胞表面に出現する泡状の突起)、および細胞腫大・空胞状変性を細胞障害の指標とした。各条件の元で、青色光照射から bleb 出現までの時間を測定した。また、細胞障害の機序を解明するため、ROS/Superoxide Detection kit を用い、XL147 存在下で青色光照射による ROS の産生を測定した。

【結果】

0.2-2 μM の XL147 存在下で、青色光を照射された PC3 細胞は数分内に細胞表面に bleb を生じ、次いで細胞小器官の空胞化が起き 15 分以内に死に至った。この細胞障害の程度は、XL147 の濃度と照射光強度に依存していた。XL147 単独、あるいは光照射単独の場合には、細胞障害は認められなかった。XL147 存在下で 500 nm もしくは 560 nm の光照射を行っても細胞障害を認められなかった。PI3K と結合する LY294002 あるいは wortmannin を事前に投与し、続いて XL147 を投与すると、細胞障害発生までの時間が有意に延長した。ROS の蛍光検出試薬を用いた観察では、XL147 存在下での青色光照射により、細胞内に著しい ROS の産生が認められた。

【結論】

XL147 はがん細胞内で PI3K と結合すると、青色光照射により活性酸素を発生させ、細胞障害を引き起こすことが示唆された。本研究により、がん細胞に抗がん剤を集積させた後で光照射を行い、PDT 効果によりがん細胞を死滅させるといふ、新しいがん治療法の可能性が拓かれた。

審査結果

平成 28 年 5 月 31 日に行われた学位論文審査委員会において、以下に示す様々な質疑応答が行われたが、それぞれに対して適切な回答が得られた。

- 1、PI3K の発現などを比較して、XL147 を用いて PDT 効果が期待できる癌腫は何か。
- 2、430 nm の波長でしか光感受性を持たない場合、生体で使用する場合の限界は何か。
- 3、XL147 を使用する場合の副作用について。
- 4、光線過敏症は XL147 で発生するのか。
- 5、XL147 の PI3K 認識部位および光感受性部位を有する分子構造について。
- 6、臨床に応用するために、より長波長で光活性化を起こすように構造を変える事は可能か。
- 7、今後 *in vivo* 研究するにあたり、どのような癌腫を想定しているのか。また、XL147 の投与方法はどのようにすべきか。
- 8、XL147 自身の吸収スペクトル、蛍光スペクトルを検討したか。
- 9、XL147 の細胞内部における局在について。

本研究は、新規抗がん剤の XL147 に関して、PI3K の活性阻害能だけではなく、光線力学療法に使用可能な photosensitizer としての機能を発見し報告している。430 nm 光照射による細胞死誘導メカニズムについても解析を行い、光照射により ROS が発生することを明らかにした。これらの結果に対する十分な考察もなされている。本研究で得られた成果は、光線力学療法による新規がん治療の開発に貢献すると考えられ、学術的価値も高い。よって、本審査委員会では審査員全員一致して博士（医学）論文に相応しいものと判断し、合格とした。

掲 載 誌 名	International Journal of Cancer		第139巻, 第3号
(公表予定) 掲 載 年 月	2016年 8月	出版社(等)名	John Wiley

(備考) 要旨は、1, 500字以内にまとめてください。