

対象研究テーマ：ヒト消化器・呼吸器がんの分子病態の解明と臨床応用

研究期間：2012年4月1日～2013年3月31日

研究題目：アミノレブリン酸投与後の腫瘍特異的ポルフィリン蓄積メカニズムの細胞レベルでの解明

研究代表者：東京工業大学大学院生命理工学研究科 特任准教授 小倉俊一郎

研究成果の概要：

がん患者にアミノレブリン酸(ALA)を投与すると、腫瘍特異的にポルフィリンが蓄積されることが知られており、この現象を利用したがんの蛍光診断・がんの光線力学治療が臨床で用いられている。しかしながら、腫瘍特異的なポルフィリン蓄積の分子メカニズムは未だ解明されていない。そこで本研究は ALA 投与後の腫瘍特異的なポルフィリン蓄積メカニズムの解明を目的とし、特異的なポルフィリン蓄積に関わる生体内物質を同定する。その結果、腫瘍特異的なポルフィリン蓄積メカニズムには ALA 取り込みに関わるトランスポーターである PEPT1 ならびにポルフィリン汲み出しにかかわるトランスポーターである ABCG2 が深く関与していることを細胞レベルで示唆することができた。

本年度ではこの二つのトランスポーターの役割を詳しく解析するためにこれらの過剰発現株・発現抑制株を樹立し、その解析を行った。さらに ALA による光線力学治療の耐性細胞におけるこれらのトランスポーターの役割も調べた。

研究分野：

キーワード：アミノレブリン酸・ポルフィリン・光線力学治療・光線力学診断

#### 1. 研究開始当初の背景

ALA を投与すると生合成経路を経てポルフィリンが生成する。この反応は腫瘍において亢進しており、ALA 投与によって腫瘍特異的なポルフィリンの蓄積が観察されている。さらに、悪性グリオーマなど悪性度の高いがんは多くのポルフィリンが蓄積する興味深い所見が得られている。しかしながら、がん細胞への特異的なポルフィリン蓄積の分子メカニズムは未だ解明されていない。

#### 2. 研究の目的

ALA 投与後の腫瘍特異的なポルフィリン蓄積メカニズムの解明を目的とし、特異的なポルフィリン蓄積に関わる生体内物質を同定する。本研究で得られる知見は、ポルフィリン蓄積能を指標としたがんの個別診断を可能とするものであり、光線力学治療の効果を予測できるバイオマーカーを提供し、光線力学治療のオーダーメイド化を実現するものである。

#### 3. 研究の方法

種々の細胞株に対して、ポルフィリン蓄積に関与していると予想される分子のたんぱく質の発現量ならびにその mRNA の発現量の解析を行った。その結果、PEPT1 ならびに ABCG2 の発現が変化している細胞が腫瘍特異的なポルフィリン蓄積に関与していることが示唆されている。そこで本年度はこれらの過剰発現株・発現抑制株を用いた解析を行った。

#### 4. 研究成果

本年度は PEPT1 の過剰発現株ならびに ABCG2 発現抑制株を樹立し、その機能解析を行った。その結果、PEPT1 の過剰発現株ならびに ABCG2 発現抑制株ではポルフィリン蓄積能が飛躍的に向上した。PEPT1 は ALA の取り込みに関与しており、ABCG2 はポルフィリンの排出に関与しているため、これらのトランスポーターの役割の重要性が証明できた。

さらに ALA を用いた光線力学治療における

耐性株においてもこれらのトランスポーターの発現異常が観察された。以上のことからALAを投与した後の腫瘍特異的ポルフィリン蓄積にはPEPT1ならびにABCG2が重要な因子であることが明らかとなった。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計3件)

1. Hagiya Y, Fukuhara H, Matsumoto K, Endo Y, Nakajima M, Tanaka T, Okura I, Kurabayashi A, Furihata M, Inoue K, Shuin T, Ogura S: Expression levels of PEPT1 and ABCG2 play key roles in 5-aminolevulinic acid (ALA)-induced tumor-specific protoporphyrin IX (PpIX) accumulation in bladder cancer, Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, 2013, in press.
2. Hagiya Y, Endo Y (equal contribution), Yonemura Y, Okura I, Ogura S: Tumor Suppressor protein p53-dependent cell death induced by 5-aminolevulinic acid (ALA)-based photodynamic sensitization of cancer cells in vitro. ALA-Porphyrin Science, 2012, 1, 23-31.
3. Hagiya Y, Endo Y (equal contribution), Yonemura Y, Takahashi K, Ishizuka M, Abe F, Tanaka T, Okura I, Nakajima M, Ishikawa T, Ogura S: Pivotal Roles of Peptide Transporter PEPT1 and ATP-Binding Cassette (ABC) Transporter ABCG2 in 5-Aminolevulinic Acid (ALA)-Based Photocytotoxicity of Gastric Cancer Cells in Vitro. Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, 2012, 9, 204-214.

[学会発表] (計3件)

1. 遠藤良夫、小倉俊一郎、米村豊、石

塚昌宏、井上克司、高橋究、中島元夫、木村仁: 5-アミノレブリン酸を用いるがんの光線力学的療法における耐性化機構 第71回日本癌学会学術総会 2012年9月(札幌)

2. 米村豊、遠藤良夫、小倉俊一郎、水元明良、石橋治昭、Emel Canbay: アミノレブリン酸による腹膜播種診断 第71回日本癌学会学術総会 2012年9月(札幌)
3. 遠藤良夫、小倉俊一郎、米村豊: 5-ALAを用いるがんの光線力学的療法における耐性化機構の解析 日本薬学会第133年会 2013年3月(横浜)

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

東京工業大学大学院生命理工学研究科  
特任准教授 小倉俊一郎

##### (2) 研究分担者

東京工業大学大学フロンティア研究機構  
特任准教授 田島健治  
東京工業大学生命理工学研究科  
修士2年 松本健太郎  
東京工業大学生命理工学研究科  
修士1年 伊藤謙介

##### (3) 本研究所担当者

中央実験施設・准教授 遠藤良夫