

論 文 内 容 要 旨

題目 Blue light induces apoptosis and autophagy by promoting ROS-mediated mitochondrial dysfunction in synovial sarcoma

(青色光は滑膜肉腫に対して活性酸素種によるミトコンドリア機能障害を起こし、アポトーシスとオートファジーを誘導する)

著者 Makoto Takeuchi, Toshihiko Nishisho, Shunichi Toki, Shinji Kawaguchi, Shunsuke Tamaki, Takeshi Oya, Yoshihiro Uto, Toyomasa Katagiri, Koichi Sairyo

2023年発行 Cancer Medicine に掲載予定

DOI:10.1002/cam4.5664

内容要旨

滑膜肉腫は関節近傍に好発する軟部肉腫であり、治療は広範切除が第一選択である。補助療法の効果は限定的で、遠隔転移や再発例は予後不良であり、新規治療法の開発が急務である。近年、発光ダイオード (Light-Emitting Diode: LED) による青色光照射が、複数のがん細胞に対し抗腫瘍効果を生じさせる報告が散見され、新しいがん治療の可能性が期待されている。本研究では青色光の滑膜肉腫治療への応用に着目し、抗腫瘍効果の検討とその作用機序解析を以下のように行った。

in vitro

滑膜肉腫細胞株に対し LED で青色光を持続照射し、以下の結果を得た。

1. 青色光は滑膜肉腫細胞に対し、著明な増殖能、コロニー形成能の抑制効果を示し、遊走能、浸潤能も阻害した。
2. 網羅的遺伝子解析 (マイクロアレイ解析) を行い、アポトーシス、活性酸素種 (Reactive Oxygen Species: ROS)、オートファジー、ミトコンドリア障害との関連を認めた。
3. Annexin V アッセイでアポトーシス細胞の増加、cleaved PARP のタンパク質発現が上昇した。Caspase 3/7 活性が亢進しており、青色光がカスパーゼ経路によるアポトーシスを誘導することが明らかとなった。
4. MitoSOX アッセイにて、ミトコンドリア内 ROS の増加を認めた。ROS 捕捉剤 (N-acetylcysteine: NAC) を併用すると、青色光によるアポトーシス誘導

様式(8)

が軽減した。これらから青色光によりミトコンドリア内 ROS が過剰産生され、アポトーシスを誘導することが示された。

5. ミトストレステスト、ミトコンドリア膜電位アッセイにて青色光によるミトコンドリア機能障害が認められ、NAC の併用により障害が軽減された。青色光による ROS がミトコンドリア機能障害を生じさせることが示された。
6. CYTO-ID アッセイにて細胞内のオートファゴソームの増加を認め、LC3B-II のタンパク質発現上昇を認めたことから、青色光によるオートファジーの誘導が明らかとなった。オートファジー阻害薬 (3-methyladenine: 3-MA) の併用、または LC3B のノックダウンによりアポトーシス誘導が亢進することから、青色光によるオートファジーはアポトーシスに抗し、細胞保護に作用していることが示された。

in ovo

in vivo 実験の前段階検証として、発育鶏卵の漿尿膜 (chorioallantoic membrane: CAM) に滑膜肉腫細胞株を移植して CAM 腫瘍モデルを作成し、以下の結果を得た。

1. ヘマトキシリン・エオジン染色では、青色光照射により明らかな細胞密度の低下と細胞質の空胞変性が生じた。
2. 青色光照射群に有意な TUNEL 陽性細胞の増加を認め、アポトーシスが生じた。

in vivo

滑膜肉腫細胞株のマウス移植モデルを作成し、青色光の外照射を連日行い、以下の結果が得られた。

1. 青色光照射により腫瘍体積は有意な縮小を認めた。
2. 青色光照射群では、組織学的解析で TUNEL 及び cleaved caspase-3 陽性細胞の増加を認めた。*in vivo* においてもアポトーシスが生じていた。

以上の *in vitro*、*in ovo*、*in vivo* での検討により、青色光は滑膜肉腫に対して増殖能、遊走能、浸潤能を抑制することが明らかとなった。その抗腫瘍効果の機序として、ミトコンドリア内 ROS を過剰産生させ、ミトコンドリアの機能障害が生じ、カスパーゼ経路によるアポトーシスが誘導されることが示された。青色光の応用が滑膜肉腫に対する新しい治療選択肢として発展する可能性が示唆された。