

## 論文の内容の要旨

氏名：徳 永 智 彦

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：Plasma-stimulated media のアポトーシス抵抗性悪性腫瘍に対する抗腫瘍作用メカニズム

背景： Tumor necrosis factor (TNF) - related apoptosis inducing ligand (TRAIL)、低温大気圧プラズマ (Cold plasma)、 Cold plasma を細胞培養液に照射して生成するプラズマ活性化メディウム (Plasma-stimulated media; PSM) は、腫瘍選択性を持つ次世代の抗がん剤として期待されている。骨肉腫やメラノーマは予後不良の悪性腫瘍であり、これら次世代の抗がん剤の有効性が期待されている。残念ながら TRAIL に対して骨肉腫やメラノーマは抵抗性を示すことが判明したが、本研究にて作成した PSM がメラノーマ、骨肉腫に対しても強い抗腫瘍作用を示すことを発見した。PSM においては、骨肉腫やメラノーマに対する抗腫瘍効果のメカニズムについて不明な点が多い。

目的： TRAIL と PSM の骨肉腫やメラノーマ細胞に対する抗腫瘍効果を直接比較することで PSM と TRAIL の抗腫瘍効果の相違がどのような生物学的作用によるものなのかを解明し、これらの悪性腫瘍に対する新たな治療法の開発の可能性について検討した。

対象と方法： TRAIL と PSM の骨肉腫細胞、メラノーマ細胞に対する抗腫瘍効果を体系的に測定・比較した。また、細胞死に関与するカスパーゼ活性化、ミトコンドリアダイナミクス、細胞膜脱分極、および

カルシウムシグナルに及ぼす影響を比較した。

結果： PSM は TRAIL 抵抗性悪性腫瘍細胞（骨肉腫細胞、メラノーマ細胞）に対して強い抗腫瘍作用を示した。PSM による抗腫瘍作用は初期にはカスパーゼ-3/7 の活性化を誘発するが、遅発性の細胞死はカスパーゼ非依存的であり、活性酸素 (Reactive Oxygen Species; ROS) を介していた。また、PSM は TRAIL よりも強くミトコンドリアネットワークを破綻させること、TRAIL よりも強くミトコンドリアならびに小胞体の細胞内のカルシウム恒常性を変化させることが明らかになり、その変化には TRAIL よりも強力な細胞膜脱分極作用が寄与していることが示された。また、store-operated  $Ca^{2+}$  entry (SOCE) を阻害することで抗腫瘍効果を発揮している可能性が考えられた。

結語： PSM は TRAIL 抵抗性悪性腫瘍細胞にも抗腫瘍効果を発揮することが示された。また、この抗腫瘍効果には、ROS の蓄積、細胞膜電位の変化ならびにカルシウム恒常性の破綻を介した遅延型カスパーゼ非依存性細胞死が関与しており、PSM が TRAIL 抵抗性悪性腫瘍の治療に有用であることが示唆された。今後、同定されていない活性因子や細胞膜電位、カルシウム、ミトコンドリアダイナミクスに対する作用機構を解明していく必要がある。また、PSM を臨床応用するにあたって、生体への安全性を検討していく必要がある。