

60 光を利用した体に優しいがん治療技術の開発	尾崎 倫孝
-------------------------	-------

【目的】 国民に対する啓発活動、健康意識の高まり、健康診断の浸透などにより、以前と比べて“がんは早期に発見され、早期に治療”されるようになった。早期発見・早期治療は、現時点でがん治療の基本となる考えであるが、現実的には進行した状態で見つかる場合は多い。進行した固形がんは、基本的にマクロあるいはマイクロでの遠隔転移を伴うが、これらの転移巣一つ一つに対して外科的治療を行うことは大きな侵襲を伴うにもかかわらず、不十分な治療で終わってしまう可能性が高い。そのため、転移を伴う進行がんに対しては、種類、分化度、発生・転移の部位などを勘案して化学療法、放射線療法等を適宜選択し治療されているが、有効性・特異性・安全性においてまだ課題が残されている。このような状況において、今回これまでに得られた分子生物学的な知識、細胞死誘導の機構、光工学的技術を活用し新たに「光の特性を利用した技術」を生み出すことで、体に優しいがん治療法の開発を行う。新たな視点に立ち、光を用いた“より安全で（より副作用・侵襲が少なく）”、“より特異的”かつ“繰り返し施行可能な”治療法の開発を目指す。最終的には近赤外光と青色光を組み合わせた光癌治療法の開発を目指す。今回はその第一段階として青色光照射によるプログラム細胞死誘導法の研究開発を行う。

【方法】 分子生物学的手法および細胞生物学的手法を用いて、1.青色光による遺伝子発現を誘導するシステムの構築、2. 種々の細胞株を用いた特定の遺伝子発現によるプログラム細胞死の誘導の可否とその効率、3. 1と2を組み合わせることによる青色光照射によるプログラム細胞死誘導の確認、4. 近赤外光がランタニドナノ粒子によりアップコンバージョンにより変化した青色光による分子操作の可否を検討した。

【結果】 1. 人工転写因子 GAVPO を用いた青色光誘導性遺伝子発現システムの構築：システム構築のために、ルシフェラーゼ遺伝子を利用した。GAVPO は、二量体化能を弱めた転写因子 GAL4 の DNA 結合ドメイン、青色光照射により二量体を形成する LOV ドメインを有する VVD、及び転写因子 p65 の転写活性化ドメインをタンデムに連結したシステムであるが、青色光を照射すると VVD を介して GAVPO は二量体化した。その結果、GAL4 の DNA 結合ドメインが二量体化することで DNA 結合能が上昇して 5×UAS に結合し、p65 の転写活性化ドメインによる転写開始複合体が TATA ボックスに生成され、その下流のルシフェラーゼ遺伝子の転写が活性化した。2. 種々の細胞株を用いた特定の遺伝子発現によるプログラム細胞死の誘導：アポトーシス、パータナトス、ネクロトーシスの3つのプログラム細胞死をターゲットとし、それぞれの細胞死の誘導経路の活性化あるいは抑制経路の不活化を目的として、種々のプローブを設計し検討した。アポトーシス、パータナトス、ネクロトーシス誘導のために、それぞれ *Harakiri* 遺伝子、mutant *AIF* 遺伝子、mutant *MLKL* 遺伝子をデザインし、種々の細胞に遺伝子導入し、細胞死誘導能を検討した。その結果、mutant *MLKL* 遺伝子が最も効率よく細胞死を誘導した。3. 青色光照射によるプログラム細胞死誘導の確認：上記1、2の成果より、mutant *MLKL* 遺伝子を青色光誘導性遺伝子発現システムに挿入した後、それを癌細胞に安定導入した。このプローブ遺伝子を安定発現する癌細胞株に対して、青色光を照射し実際にプログラム細胞死が誘導出来ることを確認した。4. ランタニドナノ粒子を利用した光分子操作：近赤外光をランタニドナノ粒子に照射し、アップコンバージョンにより生じた青色光が Akt 分子を活性化することを確認した。

青色光を利用した癌細胞特異的細胞死誘導システム

