

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：24601

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09565

研究課題名（和文）腎細胞癌に対する5-アミノレブリン酸によるミトコンドリア内鉄利用による抗腫瘍効果

研究課題名（英文）Elucidation of utilization of iron in mitochondria of renal cell carcinoma and its clinical application

研究代表者

中井 靖（Nakai, Yasushi）

奈良県立医科大学・医学部・講師

研究者番号：90445065

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,800,000円

研究成果の概要（和文）：鉄が腎細胞癌において、発癌、および癌増殖に寄与していることが示され、鉄のキレート剤（鉄を利用できなくする薬剤）が抗腫瘍効果を示すことが報告されている。しかし、鉄は正常細胞にも必要であり、鉄をキレートすることは正常細胞に影響を及ぼし、さまざまな副作用が問題である。本研究では、5-アミノレブリン酸（ALA）が腎細胞癌細胞内のヘム合成経路において、鉄利用が促進され、細胞内の鉄レベルが低下し、細胞増殖が抑制された。また、動物実験においては、発がんの抑制および、増大を抑制した。5-ALAが、腎細胞癌に対しての現在利用可能な薬剤とは異なる機序による抗腫瘍効果が期待できる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腎細胞癌においては、様々な薬剤の効果が認められ使用可能となっているが、特に転移性の腎細胞癌は、依然予後不良な疾患である。5-アミノレブリン酸（ALA）は、ミトコンドリアにおけるヘム合成経路で鉄を利用することで、癌制御を示した。このため、鉄をキレートせずに鉄を制御し、癌を抑制することが可能な新しい治療薬としての可能性を示した。

研究成果の概要（英文）：Iron can contribute to tumor growth and carcinogenesis in renal cell carcinoma. Although iron chelators have shown great potential in preclinical cancer models, they can cause infection and gastrointestinal bleeding.

The present study demonstrated that 5-aminolevulinic acid (ALA) decreased iron levels in renal cell carcinoma and inhibited renal cell carcinoma cell proliferation. Furthermore, 5-ALA inhibited carcinogenesis and tumor growth in vivo study.

These results indicate that 5-ALA potentially can be used as a new anti-cancer agent for renal cell carcinoma without the use of an iron chelator.

研究分野：泌尿器科

キーワード：腎細胞癌 鉄 ミトコンドリア

## 1. 研究開始当初の背景

腎細胞癌において、豊國らが30年ほど前に鉄ニトリロ三酢酸をラットに腹腔内投与することで、腎がんを高率に作成させるモデルを確立した。これは、過剰な鉄（特に2価鉄イオン）がフリーラジカルを生じ、酸化障害（フェントン効果）を惹起し、発癌を起こすことによる。また、鉄が腎細胞癌細胞の細胞増殖を促進することも報告されている。以上より腎細胞癌における鉄は、発癌および癌細胞増殖において重要な役割を果たしている。そのため、鉄のキレート剤は、鉄の利用を阻害し、腎細胞癌内の鉄レベルを低下させることで、抗腫瘍効果を示すことが報告されている。これは鉄のキレート剤が、鉄レベルを低下させることで、酸化障害の抑制、細胞周期の遅延、アポトーシスの誘導により、発癌および癌細胞の増殖を抑制することによる。しかし、鉄は正常細胞にも必要であり、鉄のキレート剤は正常細胞にも影響を及ぼし、さまざまな副作用のため臨床的に普及していないのが現状である。このため、鉄をキレートせずに癌細胞内の鉄イオンレベルを低下させることは長年の課題とされていた。

当教室では膀胱癌と鉄の関係および、5-ALAによる膀胱癌に対する抗腫瘍効果について検討してきた。5-ALAはヘムの前駆物質であり、体内に由来存在する天然物質である。さまざまな中間物質を経て2価鉄イオンとプロトポルフィリンからヘムへと合成される。膀胱癌細胞に対して5-ALAを投与すると、ヘム合成経路および電子伝達系が促進され、ミトコンドリア内の2価鉄イオンの発現が低下、貯蔵鉄であるフェリチンの発現も低下し、細胞増殖が抑制された。このことから、5-ALAは膀胱癌細胞内のミトコンドリア内での鉄利用を促進させ、細胞内の鉄イオンレベルを低下させることで、抗腫瘍効果を示すことを証明した。

以上を考慮すると、5-ALAが腎細胞癌細胞内においてもミトコンドリア内での鉄利用を促進し、腎細胞癌細胞内の鉄レベルを低下させ、抗腫瘍効果を示す可能性が期待される。

## 2. 研究の目的

腎細胞癌における5-ALAによる、抗腫瘍効果(細胞増殖、発がん抑制)について評価する。

## 3. 研究の方法

- (1) 腎細胞癌細胞株である786-O、769-P、CAKI-1、CAKI-2において、クエン酸第一鉄および5-ALA投与し細胞増殖の評価
- (2) 腎細胞癌細胞株である786-O、769-P、CAKI-1、CAKI-2における、5-ALA投与による細胞周期、アポトーシスの評価
- (3) 腎細胞癌細胞株である786-O、769-P、CAKI-1、CAKI-2における、5-ALA投与によるミトコンドリア内の $Fe^{2+}$ の発現、フェリチンの評価
- (4) ヘム合成経路におけるフェロケラターゼのsiRNAを用いて発現を低下させた細胞株に

おける、細胞増殖、ミトコンドリア内の Fe<sup>2+</sup>の発現、フェリチンの評価

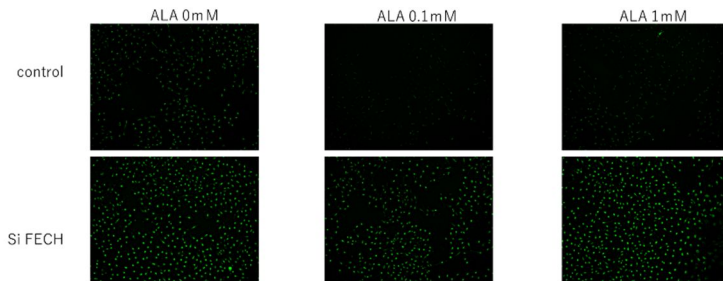
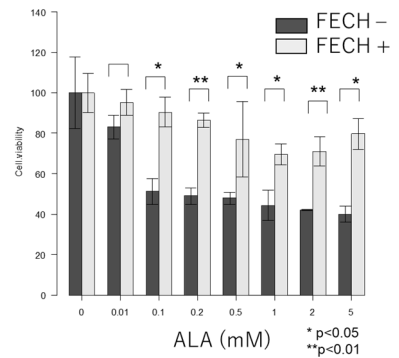
(5) 鉄ニトリロ三酢酸を用いた腎細胞がんモデルを用いた、5-ALA 投与による発がん抑制および腫瘍増大による検討

#### 4. 研究成果

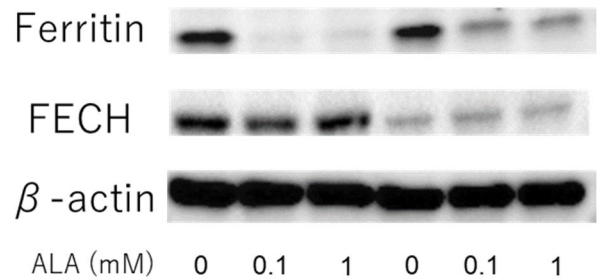
(1) クエン酸第一鉄により細胞増殖の促進を認め、5-ALA により細胞増殖は抑制された。フェロケラターゼ(FECH)の抑制によりその5-ALA の抗腫瘍効果は抑制された

(2) 5-ALA 投与においては、アポトーシスは認めず、細胞周期において、S 期が増加しており、フェロケラターゼ(FECH)の抑制によりその5-ALA によるS 期の増加は抑制されていた。

(3) 5-ALA の投与により、ミトコンドリア内の Fe<sup>2+</sup>の発現の低下、そしてフェロケラターゼ(FECH)の抑制によりその5-ALA による鉄への影響は減弱した。



(4) 5-ALA の投与により、フェリチンの発現の低下、そしてフェロケラターゼ(FECH)の抑制によりその5-ALA による鉄への影響は減弱した。



(5) 動物実験にて、5-ALA の投与により、発がんは抑えられ、腫瘍増大に関しても抑制された。



以上から、5-ALA により、ミトコンドリア内のヘム合成経路促進により、ミトコンドリア内の  $\text{Fe}^{2+}$  の発現、フェリチンの発現が低下し、S 期 arrest により細胞増殖が抑えられる可能性が示唆された。また、5-ALA の発がんにおいては、5-ALA 投与により、ROS が抑えられ発がんが抑えられる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	藤本 清秀  (Fujimoto Kiyohide)  (50264867)	奈良県立医科大学・医学部・教授    (24601)	
研究分担者	三宅 牧人  (Miyake Makito)  (80601400)	奈良県立医科大学・医学部・講師    (24601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関