OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	がん細胞への薬剤取込評価に向けたレーザーイオン化質量分析イメージング法の開発
Author(s)	閑念, 弘樹
Citation	大阪大学, 2022, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/88067
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　閉念　弘樹　）	
論文題名	がん細胞への薬剤取込評価に向けたレーザーイオン化質量分析イメージング法の開発

論文内容の要旨

抗がん剤が集積しにくいがん細胞に対して、レーザーなどの光源および光感受性薬剤を用いる光線力学療法（以下「PDT」という） を検討するために、細胞ごとに複数の物質の分布測定が可能な質量分析イメージング（以下「MSI」という） にて薬剤取込の評価を行った。従来のMSI の問題点として、検出感度が低いため測定対象が限られること、また空間分解能が低く細胞スケールでの薬剤の検出が困難であることが挙げられた。そこで、検出感度の向上のための新規イオン化補助剤の検討、および高空間分解能MSI による細胞スケールでの薬剤の検出を目指した。

検出感度が低く、MSI による報告がなされていない抗がん剤ドセタキセルの検出感度を向上させるために、新規イオン化補助剤の検討を行った。ドセタキセルはナトリウムイオンが付加して検出され、また試料にナトリウムイオンを添加した場合に検出感度が向上する傾向があったため、構造中にナトリウムイオンを多数含むNa^+置換型のゼオライト（以下「NaY5.6」という） に着目した。NaY5.6 に従来のイオン化補助剤である6-アザ-2-チオチミンを混合させ、作製したゼオライトマトリックスを用いた場合に、ドセタキセルのナトリウム付加イオンの検出感度が約13 倍に向上した。またこのゼオライトマトリックスを用いることで、従来は困難であった細胞に取り込まれたドセタキセルを検出することに成功した。ヒト前立腺がん細胞PC-3、および本研究において作製したドセタキセル耐性PC-3細胞であるPC-3-DR細胞に対して、ドセタキセル、および光感受性物質プロトポルフィリンIX（以下「PpIX」という） を浸漬させて、それぞれの薬剤の取込を評価したところ、開発したゼオライトマトリックスを用いた場合にのみ、ドセタキセルはPC-3 細胞のみから検出され、一方、PpIX はPC-3細胞、およびPC-3-DR 細胞から検出された。これによりドセタキセル耐性ヒト前立腺がんに対するPDT の有効性が示唆された。

高空間分解能MSI による薬剤分布の評価法として、MSI 以外の手法でも薬剤分布を検出し、双方を比較できるサンプル調整手法の開発を行った。またホルマリン溶液による固定処理、およびサンプルの洗浄処理を行うことで、細胞の形状を保ったままMSI を行うことに成功し、色素によって染色した細胞からイオン像を取得することに成功した。これにより投影型質量分析イメージング計、MULTUM-IMG2 において細胞スケールでのMSI が可能であることが示された。

高空間分解能MSI で薬剤を検出するために、一般的に結晶サイズが大きくなると言われている有機マトリックスの新たな塗布手法を開発し結晶サイズを小さくしつつ，PpIXのイオン化効率を向上させることに成功した。また結晶サイズが小さいと言われている無機マトリックスによる新たなイオン化手法を開発した。結晶サイズを小さくしつつ、PpIXのイオン化効率を向上させることに成功した。これらの技術を用いることで、薬剤の空間分布を乱さずに、高い検出感度と高い空間分解能を得ることができると考えられる。

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（　閑念　弘樹　）		
	（職）	氏　名
論文審査担当者	主 査　教授 副 査　教授 副 査　准教授	粟津　邦男 村田　勲 間　久直

論文審査の結果の要旨

本論文では、抗がん剤が集積しにくいがん細胞に対して、レーザーなどの光源、および光感受性薬剤を用いる光線力学療法（photodynamic therapy、以下「PDT」という） を検討するために、細胞毎に複数の物質の分布測定が可能な質量分析イメージング（mass spectrometry imaging、以下「MSI」という） にて薬剤取込の評価を行っている。従来の MSI の問題点として、検出感度が低いため測定対象が限られること、また空間分解能が低く細胞スケールでの薬剤の検出が困難であることが挙げられる。そこで、検出感度の向上のための新規イオン化補助剤の検討、および高空間分解能 MSI による細胞スケールでの薬剤の検出を目指している。

検出感度が低く MSI の報告例がない抗がん剤ドセタキセルの検出感度を向上させるために、新規イオン化補助剤を検討している。ドセタキセルはナトリウム付加イオンとして検出され、また試料にナトリウムイオンを添加した場合に検出感度が向上する傾向があったため、構造中にナトリウムイオンを多数含む Na^+置換型ゼオライト NaY5.6 に着目している。NaY5.6 に従来のイオン化補助剤である 6-アザ-2-チオチミンを混合させ、作製したゼオライトマトリックスを用いた場合に、ドセタキセルのナトリウム付加イオンの検出感度が約 13 倍に向上している。また、このゼオライトマトリックスを用いることで、従来は困難であった細胞に取り込まれたドセタキセルの検出に成功している。ヒト前立腺がん細胞 PC-3、および本研究において作製したドセタキセル耐性 PC-3 細胞である PC-3-DR 細胞に対して、ドセタキセル、および光感受性物質プロトポルフィリン IX（PpIX）を投与して、それぞれの薬剤の取込を評価したところ、開発したゼオライトマトリックスを用いた場合にのみ、ドセタキセルは PC-3 細胞のみから検出され、一方、PpIX は PC-3 細胞、および PC-3-DR 細胞から検出されている。これにより、ドセタキセル耐性ヒト前立腺がんに対する PDT の有効性が示唆されている。

高空間分解能 MSI による薬剤分布の評価法として、MSI 以外の手法でも薬剤分布を検出し、双方を比較できるサンプル調整手法の開発を行っている。また、ホルマリン溶液による固定処理、およびサンプルの洗浄処理を行うことで、細胞の形状を保ったまま MSI を行うことに成功し、色素によって染色した細胞からイオン像を取得することに成功している。これにより、投影型質量分析イメージング計 MULTUM-IMG2 で細胞スケールでの MSI が可能であることが示されている。

高空間分解能 MSI で薬剤を検出するために、一般的に結晶サイズが大きくなると言われている有機マトリックスの新たな塗布手法を開発し、結晶サイズを小さくしつつ，PpIX のイオン化効率を向上させることに成功している。また、結晶サイズが小さいと言われている無機マトリックスによる新たなイオン化手法を開発し、結晶サイズを小さくしつつ、PpIX のイオン化効率を向上させることに成功している。これらの技術を用いることで、薬剤の空間分布を乱さずに、高い検出感度と高い空間分解能を得ることができると考えられる。

以上のように、本論文では、がん細胞への薬剤取込評価に向けたレーザーイオン化質量分析イメージング法の開発について有用な成果が得られていると考えられ、本論文は博士論文として価値あるものと認める。