

## 学位論文の内容の要約

氏名	西川 翔
学位の種類	博士（生命科学）
学府又は研究科・専攻	大学院工学府 共同先進健康科学専攻
指導を受けた大学	東京農工大学
学位論文題目	細胞増殖シグナルを分子標的とする中皮腫の新奇治療法に関する研究

## 【論文の内容の要約】

中皮腫は主に胸腔内に発生する致死的な腫瘍疾患であり、アスベストが胸腔内で引き起こす慢性炎症が腫瘍発生に関連することが報告されている。現存の治療法では完治が困難であり、今後数十年間での患者数の増大が懸念されていることから、中皮腫における有効な治療法の確立は、今日の医学領域における最重要課題の一つである。発症の主因であるアスベストが、胸腔内の中皮細胞やマクロファージに対し作用して腫瘍発生の起点となる際に、転写因子 nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B)は重要な役割を担うことが報告されている。また他の腫瘍において、NF- $\kappa$ B が腫瘍性増殖や抗アポトーシスで中心的な役割を發揮することが報告されているが、中皮腫における NF- $\kappa$ B の活性を詳細に評価した研究は未だかつて存在しない。本研究では、ヒト中皮腫細胞における NF- $\kappa$ B の活性を評価し、腫瘍性増殖との関連性の解析から、NF- $\kappa$ B 特異的阻害による分子標的治療の可能性を検証した。更に中皮腫の物理的治療法としてある一定の治療効果を示す Radio frequency (RF)温熱療法において、その治療メカニズムにおける NF- $\kappa$ B の関連性を検討した。

第I章では、3種組織型のヒト中皮腫細胞における NF- $\kappa$ B の活性化状況と腫瘍性増殖との関連性を検証した。ウェスタンブロット法によって、異なる病理組織型においても NF- $\kappa$ B が恒常的に活性化していることを明らかとし、更に NF- $\kappa$ B 特異的阻害剤の利用によって、中皮腫細胞における NF- $\kappa$ B の活性度が減少したことを確認した。また腫瘍性増殖に対する NF- $\kappa$ B 活性阻害の影響を MTT 試験によって評価したところ、NF- $\kappa$ B 阻害剤は低用量から従来の中皮腫の化学療法剤である Cisplatin や Pemetrexed と同様の細胞増殖抑制効果を示した。以上の結果より、ヒト中皮腫において恒常的な NF- $\kappa$ B の活性化が腫瘍性増殖に関与し、新奇治療法の分子標的としての可能性が示唆された。

第II章では、NF- $\kappa$ B 活性阻害による腫瘍性増殖抑制効果のメカニズムについて、細胞周期および細胞周期調節因子に着目して解析を実施した。細胞周期解析によって、NF- $\kappa$ B 活性阻害は subG1/G1 期における細胞周期の停止を誘導し、その効果は Pemetrexed よりも顕著であった。またウェスタンブロット法によって、G1 期の通過および S 期移行に関わる細胞周期調節因子の発現を検証したところ、全ての中皮腫細胞における Cyclin D3 の発現が減少していることが確認された。本章では、NF- $\kappa$ B 活性阻害による中皮腫の増殖抑制効果について、Cyclin D3 の発現抑制を介した subG1/G1 期の細胞周期停止による分子メカニズムが解明された。

第III章では、NF- $\kappa$ B 活性阻害による中皮腫治療効果について、生体内モデルを用いて検証した。また RF 温熱療法の作用メカニズムについて、NF- $\kappa$ B 活性阻害の可能性を検討することで、RF の NF- $\kappa$ B 活性制御の手段としての可能性を評価した。スフェア形成試験によって、NF- $\kappa$ B 活性阻害によるスフェア形成の抑制効果が認められた。皮下移植マウスモデルを用いた試験では、NF- $\kappa$ B の阻害によって中皮腫の生着および成長は遅延した。更に胸腔内移植マウスモデルを用いた治療効果の評価によって、NF- $\kappa$ B 阻害剤は Cisplatin とほぼ同様の治療効果を示した。また RF は、トリパンプルー色素排除試験における細胞増殖の抑制効果を示し、BrdU 試験では DNA 合成を阻害

した。更に RF は、NF- $\kappa$ B 活性阻害と同様の subG1/G1 期における細胞周期停止を誘導することが、細胞周期解析によって確認された。ウェスタンブロット法によって、それらの細胞における NF- $\kappa$ B の活性と他の細胞増殖シグナルの一つである Akt の活性および分子シャペロンの一つである Heat shock protein 70 (HSP70) の発現を評価したところ、RF は NF- $\kappa$ B を含む腫瘍増殖性の機能性蛋白質の活性を低下させ、HSP70 の発現を増加させた。以上の結果より、NF- $\kappa$ B 特異的阻害剤による中皮腫治療効果の可能性が示唆され、NF- $\kappa$ B 活性制御を目的とする治療法としての RF の有用性が明らかとなった。

中皮腫は今後世界的に患者数の増加が懸念される致死的な腫瘍疾患であり、腫瘍化メカニズムの解明と有効な治療法の確立が求められている。本研究で得られた新知見は、中皮腫における転写因子 NF- $\kappa$ B の重要性を明らかにすると共に、その活性の制御に基づく治療法開発の一助となるものであり、有効な治療を行うための新奇治療戦略を提唱するものである。