

学位論文題名

制がん剤処理および放射線照射が腫瘍細胞の浸潤能に
及ぼす影響

学位論文内容の要旨

浸潤は転移の一要素であり、転移はがん治療の際最も注意を払う必要がある点の一つである。一般的に、がん治療は制がん剤、外科手術ならびに放射線照射を状況に応じて組み合わせて行われている。しかしながらこれらのがん治療は、望まずに浸潤および転移を促進してしまうリスクがあることが報告されている。例えば、DNAに挿入されDNAトポイソメラーゼIIを阻害する制がん剤であるドキソルビシンは、transforming growth factor- β (TGF- β)を介して乳がん細胞の転移および浸潤を刺激することが報告されている。またZhaiらは、放射線が膠芽腫の浸潤性を促進する事を報告している。

制がん剤および放射線は様々な影響を細胞に及ぼすため、上記以外にも腫瘍細胞の転移および浸潤を亢進する可能性がある。そこで私は、制がん剤および放射線が腫瘍細胞の浸潤能に及ぼす影響を調べ、浸潤能が促進した場合にそのメカニズムを明らかにすることを目的として研究を行った。

第一章では制がん剤に着目し、作用機序の異なる4種類の制がん剤がヒト胃腺がん由来MKN45細胞の浸潤能に及ぼす影響を調べた。その結果、ピンクリスチンがMKN45細胞のアメーバ様運動をguanine nucleotide exchange factor-H1 (GEF-H1)/RhoA/Rho-associated protein kinase (ROCK)/myosin light chain (MLC) シグナル経路を介して誘導し、その結果浸潤能を促進することが示唆された。続いて第二章では放射線のバイスタンダー効果に着目し、放射線を照射したヒト乳がん由来MDA-MB-231細胞およびヒト肺がん由来A549細胞の培養後の培地がそれぞれの細胞の浸潤能に及ぼす影響を調べた。その結果、X線を照射したがん細胞の培養培地はepidermal growth factor (EGFR) を介してがん細胞の細胞外基質分解能を促進し、その結果浸潤能を促進することが示唆された。

本研究から、ピンクリスチンを用いたがん治療においてGEF-H1/RhoA/ROCK/MLCシグナル経路を阻害すること、ならびにX線によるがん治療においてEGFRシグナル経路を阻害することによりがん細胞の浸潤能を抑制し治療効率を増強出来ることが期待される。

学位論文審査の要旨

主査	教授	稲波	修
副査	教授	稲葉	睦
副査	教授	木村	和弘
副査	准教授	山盛	徹

学位論文題名

制がん剤処理および放射線照射が腫瘍細胞の浸潤能に及ぼす影響

制がん剤処置には、がんの種類、発症部位ならびにがんのステージ等に応じて多種多様な薬剤が用いられている。同様に、がんに対する放射線治療も広く行われており、胃がん、乳がん、前立腺がんや肺がんを始め、多くのがん種が治療対象である。しかしながら、臨床では制がん剤および放射線で原発がん病巣を制御できたとしても、しばしば浸潤を起し、転移による死亡に至る例もあることが知られており、その対応が望まれている。しかしメカニズムについては不明な点が多く、どのような制がん剤が転移を起こしやすいのか、さらに、その制がん剤や放射線での浸潤や転移のメカニズムについては明らかにすることは治療中に起きる予期しない浸潤や転移の制御法を開発する上で重要であると考えられる。永瀧正人氏は本学位論文において第一章では制がん剤によるがん細胞の浸潤能の増強機構について、第二章では放射線照射部位の近傍の非照射がん細胞の浸潤能の増強機構について明らかにする目的で各種がん細胞株を用いたインビトロでの実験を行い、これらのメカニズムの一部を明らかにした。

第一章においては、DNA損傷を起点とする制がん剤としてシスプラチンとエトポシドを、微小管に影響を与える制がん剤としてパクリタキセルとビンクリスチンの4つの制がん剤によるがん細胞の浸潤能に及ぼす影響に焦点を当て検討を行った。ヒト胃腺がん由来 MKN45 細胞を用いて検討したところ、シスプラチン、エトポシドならびにパクリタキセルは MKN45 細胞の浸潤能を有意に抑制したが、微小管重合阻害剤であるビンクリスチンによる処理は浸潤能を逆に促進することが示された。そしてこの浸潤能の促進は guanine nucleotide exchange factor-H1 (GEF-H1) / RhoA / Rho-associated protein kinase (ROCK) / myosin light chain (MLC) シグナル経路の活性化を介していることが示された。更に本研究によって、GEF-H1/RhoA/ROCK/MLC シグナル経路の活性化ががん

細胞の膜ブレブ形成とアメーバ様運動を引き起こすことも明らかにされた。既に他の研究グループからアメーバ様運動と浸潤能は密接に関連していることが報告されていることから、本研究で得られた結果は、MKN45 細胞のビンクリスチン処理による浸潤能促進には GEF-H1/RhoA/ROCK/MLC シグナル経路を介したアメーバ様運動が関与することを強く示唆している。

第二章においては、X 線照射が間接的（バイスタンダー効果）に乳がん由来 MDA-MB-231 細胞および肺がん由来 A549 細胞の浸潤能に及ぼす影響を検討した。まず、X 線を照射したがん細胞の培養培地を非照射のがん細胞の培地として用いて培養したところ、非照射のがん細胞の浸潤能を促進することが示された。この結果は X 線を照射したがん細胞の培養培地中に細胞浸潤能を促進する何らかの因子が存在することを示している。次に、X 線を照射したがん細胞において epidermal growth factor (EGF) の mRNA 量と培地中の EGF 濃度が増加する事が明らかにされ、細胞浸潤能の促進には照射細胞から合成される EGF が関与する事が示唆された。また、X 線を照射したがん細胞の培養培地が非照射のがん細胞の epidermal growth factor receptor (EGFR) を活性化させること、ならびに非照射細胞の EGFR を介して細胞浸潤能および細胞外基質分解能を促進させることも明らかにされた。

本研究はビンクリスチンを用いたがん治療においてがん細胞浸潤能の活性化が起こる可能性があること、さらにそのメカニズムには GEF-H1/RhoA/ROCK/MLC シグナル経路が重要であること、また、X 線照射されたがん細胞の近傍の非照射がん細胞では浸潤能の活性化の可能性があること、そのメカニズムとして EGFR シグナル経路の活性化が重要であることを示唆した初めての研究である。本研究成果はこれらのシグナル経路を標的にすることで転移を抑制し、治療効率の増強を図ることが期待されることから、今後のがん治療法の開発において非常に意義のある研究であると認められる。よって、審査委員一同は、上記博士論文提出者永瀧正人氏の博士論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規定第 6 条の規定による本研究科の行う博士論文の審査等に合格と認めた。