

審査の結果の要旨

氏名 雷 書紅

本研究は、臨床上重大な問題となっている固形癌の薬剤耐性についてその克服法の開発を目指し、固形癌内部にみられるストレスによって誘導される抗癌剤耐性に対する新規プロテアソーム阻害剤の耐性克服作用を検討し、さらに新たな耐性克服の分子標的としてヘムオキシゲナーゼ 1 についても検討を加え、下記の結果を得ている。

1. 新規プロテアソーム阻害剤として Belactosin A (分子量 369.42) とその誘導體 KF33955 (分子量 459.55)、KF64586 (分子量 608.74) を用い、これらの化合物の精製 20S プロテアソームや癌細胞の核抽出液中プロテアソーム活性に対する阻害活性を比較した。その結果、Belactosin A が最も阻害活性が弱く、KF33955、KF64586 の順に阻害活性が強くなることが明らかになった。
2. Belactosin A、KF33955、KF64586 について、ヒト大腸癌細胞株 HT-29、卵巣癌株 A2780 細胞を用い、ストレス下でのトポイソメラーゼ (トポ) II 標的抗癌剤耐性の誘導に対する影響を比較した。グルコース飢餓環境下では、通常培養条件下と比較し、エトポシドに対して耐性を示した。10 μ M の KF33955 存在下では、この耐性誘導は顕著に抑制され、グルコース飢餓環境下においてもエトポシドに感受性を示すようになった。同様にトポ II 標的抗癌剤のドキソルピシンの耐性も顕著に抑制された。KF64586 も同様の耐性誘導の抑制効果を示したが、KF33955 と比較して弱かった。また、Belactosin A はほとんど抑制効果を示さなかった。
3. 次に、トポ II α の発現に及ぼす効果を比較した。グルコース飢餓環境下にある HT-29 細胞や A2780 細胞では、プロテアソーム依存的な分解の亢進により、トポ II α の発現低下が認められるが、10 μ M の KF33955 存在下ではこの分解がほぼ完全に抑制された。上記の耐性誘導の抑制効果とよく合致して、KF64586 によるトポ II α 分解の抑制は KF33955 に比べ弱く、Belactosin A は分解抑制効果をほとんど示さなかった。また、低酸素によって誘導されるト

ポ II α の分解に対しても、やはり KF33955 が最も強く抑制した。以上より、無細胞系での結果と異なり、細胞レベルでのプロテアソーム阻害活性は KF33955 が最も強く、以下 KF64586、Belactosin A の順となることが明らかになった。

4. 細胞レベルでのプロテアソーム阻害活性の違いをさらに確認するため、TNF- α による NF- κ B の活性化に及ぼす影響について検討した。通常、細胞内では NF- κ B は阻害蛋白 I κ B にて抑制されているが、TNF- α 刺激によって I κ B のプロテアソーム依存的な分解が誘導され、その結果 NF- κ B の活性化が起こることが知られている。レポーターアッセイにより検討したところ、KF33955 は TNF- α による NF- κ B の活性化を濃度依存的に阻害したが、KF64586 による阻害はそれに比べて弱く、また Belactosin A はほとんど阻害しなかった。以上の検討の結果、細胞レベルでのプロテアソーム阻害活性においては、KF33955 が最も優れていることが明らかになった。
5. プロテアソーム阻害剤 KF33955 による耐性誘導の阻害についてトポ II α の分解抑制以外のメカニズムが関与しているかを検討し、耐性誘導の阻害と一致してヘム分解酵素として知られているヘムオキシゲナーゼ 1 (HO-1) の発現を誘導することを見い出した。そこで、HO-1 の活性阻害作用を有し強力な HO-1 誘導剤として知られる ZnPP を用い検討したところ、ZnPP はストレス誘導のエトポシド耐性を顕著に阻害することが明らかになった。
6. ZnPP の耐性克服機序を明らかにするため、HO-1 cDNA を癌細胞にトランスフェクションした。その結果、HO-1 の過剰発現により、グルコース飢餓や低酸素によって誘導されるアポトーシスに高感受性化することが明らかになった。この結果とよく一致して、低酸素に感受性の白血病 U937 細胞では、低酸素誘導のアポトーシスに伴い HO-1 が誘導されるが、低酸素耐性の Uh30 細胞では誘導されないことを見い出した。

以上、本論文は、固形癌内部にみられるストレスによって誘導される抗癌剤耐性に対し、新規プロテアソーム阻害剤 KF33955 が有効であることを明らかにした。また、プロテアソーム依存的なトポ II α の分解以外の耐性機序についても検討し、HO-1 誘導剤 ZnPP がストレスによる耐性誘導を抑制することを明らかにした。本研究は、固形癌の薬剤耐性の克服に貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。