

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 徐 慶雲

上皮細胞由来の癌（腺癌）はその形態的特徴から、高分化型と低分化型に分類される。高分化型腺癌は細胞極性や接着能を有し、生体内において発癌した場合でも固形腫瘍を形成するため、外科的手術による治療が有効である。一方、低分化型腺癌は高分化型腺癌がその特徴を失い、他の臓器への高い転移能を獲得し、手術による治療除去が困難な極めて悪性の癌である。印環細胞癌はこのような低分化型腺癌に属し、東アジアで特に多く、死亡率も高い。しかしながら現在も有効な治療法はなく、早急な治療薬及び治療方法の開発が望まれている。細胞情報伝達機構において極めて重要な役割を果たすホスファチジルイノシトール3-キナーゼ (PI3K) は発癌に関連があることが示唆されている。これまでに活性化型 PI3K を発現させることにより高分化型腺癌由来の培養細胞が低分化型の特徴を持つように形態変化することがわかっている。また、天然の印環細胞癌では原癌遺伝子産物 ErBb3 がリン酸化、活性化され、PI3K がこれと結合することにより活性化されている例が多いことがわかっている。

本論文ではこのような背景をもとに、印環細胞癌形成における PI3K の下流因子の検索を行い、印環細胞癌の形成を阻害する薬剤の検索とその作用機作について解析を行った。

本論文は主に2つの部分から構成され、前半では、高分化型腺癌由来 HCC2998 細胞を用い、細胞間接着能の低下と細胞内の巨大な液胞の形成を指標に、印環細胞癌様への形態変化に関与する種々 PI3K 経路関連分子について解析した結果を述べている。PI3K の下流因子としては、これまでに PKC、PKB 及び種々の MAP kinase による蛋白質リン酸化経路が知られており、本研究においてもこれらの分子のいずれかの関与が予想された。効率的な HCC2998 細胞への一過性発現系を確立し、それを用いて、様々な分子について検討した結果、p38 MAP kinase の上流分子である蛋白質リン酸化酵素 MKK6 及びそのさらに上流に位置する低分子量 GTP 結合蛋白質である Rac のそれぞれの活性化型の発現により、細胞間接着能の低下による、球状への形態変化が誘導された。このことから ErBb3-PI3K-Rac-MKK6-p38 MAP kinase 経路は印環細胞癌の形態変化に重要な因子であることがわかった。次に、形態変化による癌悪性化についての解析で得られた結果をもとに、天然の印環細胞癌株を用いた足場非依存的な増殖すなわち腫瘍形成能について解析を行った。その結果、程度の差こそあるが、PI3K 阻害剤のみならず、p38 MAP kinase 阻害剤においても、印環細胞癌の腫瘍形成能を抑制した。従って PI3K/p38 MAP kinase 経路が低分化型腺癌への転換、すなわち癌の悪性化に必須であることが示唆された。一方で、細胞内の液胞、いわゆる印環形成については p38 MAP kinase とは非依存であることが判明した。従って、印環細胞癌形成において PI3K の活性化が必須であるが、その下流は (1) p38 MAP kinase 依存性と (2) p38 MAP kinase 非依存性、の少なくとも二つの経路が存在し、(1) は細胞間相互作用に (2) は印

環の形成に関わっていることが判明した。

後半では、HCC2998 細胞を用いた *in vitro* での印環細胞癌様の細胞形成システムを利用した印環細胞癌に対する治療薬の探索を行った。この系を用いて、40,000 種類の化合物から印環細胞癌の形成を阻害する 80 種類の薬剤を得た。それらの薬剤のうちの 7 種は、天然の印環細胞癌由来の細胞である NUGC4 及び KATOIII 細胞に対しても有効であった。その代表的な 5 種類の薬剤は cAMP カスケードの下流に位置する転写因子の活性化を誘導し、cAMP シグナル伝達系に関与すると考えられた。これらはヒト癌細胞パネルアッセイにより既知の抗癌剤と異なる新たな機能を持つ可能性が示唆されたことから新タイプの薬剤が得られていることが考えられた。

以上、本論文は東アジアにおいて特に高い死因を示す印環細胞癌制圧のための細胞内シグナル伝達機構を中心とした基礎研究とそれに基づいた治療薬の探索を行い、有用な知見を供給したもので、学術上応用上貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。