

審査の結果の要旨

氏名 小木曾 泰 成

がん化学療法の進歩により、治癒や延命を期待できるようになってきた。しかしその一方で、抗がん剤にほとんど反応しない固形がんや治療中に抗がん剤に抵抗性をもつ耐性がんが存在することも事実であり、このような難治がんへの対応が切望されている。固形がんの薬剤抵抗性の原因として、異常な血管形成によって生ずるグルコース飢餓や低酸素といった固形がん特有の内部環境があり、がん細胞はこうした環境に対してストレス応答することによって抗がん剤耐性形質を獲得している。これまでに、ストレス応答したヒトがん細胞が種々の抗がん剤に耐性を示すことが知られており、なかでも DNA topoisomerase II (Topo II) 標的抗がん剤の耐性機序として、標的分子である Topo II α の発現低下が明らかとなっている。本研究は、ストレスによる Topo II α 発現低下にプロテアソームが関与していること、特に固形がん内部のストレスによって誘導されるプロテアソームの核内蓄積が Topo II 標的抗がん剤の耐性誘導に重要な役割を果たしていることを示したものである。

以下、研究結果の要旨を記す。

1. プロテアソーム阻害剤ラクタシスチンによる Topo II α 発現低下の抑制と抗がん剤耐性克服

プロテアソーム特異的阻害剤ラクタシスチンによって、グルコース飢餓による Topo II α の発現低下がラクタシスチンの濃度依存的に抑制され、それにとまって耐性誘導も阻害された。さらに、マウス腫瘍モデルを用いた治療実験でもラクタシスチンがエトポシドの抗腫瘍効果の増強に有効であることが明らかになった。以上の結果から、ストレスによって誘導される Topo II 標的抗がん剤耐性にプロテアソームが関与することが示唆された。

2. 固形がん内部のストレスによって誘導されるプロテアソームの核内蓄積と耐性誘導

グルコース飢餓や低酸素条件下では、核内のプロテアソームサブユニットの発現量が上昇し、発現上昇と相関して核内のプロテアソーム活性も上昇していることが明らかになった。全細胞抽出液のプロテアソームサブユニットの発現量はストレスの有無に関わらず変化は認められなかったことから、ストレス環境下でプロテアソームが核内蓄積していることが示された。次に、プロテアソームのサブユニットの一つである XAPC7 の全長 (XAPC7/WT) 及び NLS 配列を含む C 末端を欠損させた変異体 (XAPC7/dNLS) を安定に発現するヒト大腸がん HT-29 細胞株、HXAWT 及び HXAdNLS 細胞を樹立した。HXAdNLS 細胞のグルコース飢餓条件下における核内のプロテアソームを検討したところ、HT-29 細胞 (親株) や HXAWT 細胞と比較してプロテアソームの核内蓄積が抑制されていた。興味深いことに、NLS が欠損した外因性のサブユニットだけでなく、内因性のプロテアソームサブユニットの核内蓄積も抑制されていた。また、HXAdNLS 細胞の通常培養条件下における核内プロテアソームの発現量や活性を調べたところ、HT-29 細胞や HXAWT 細胞とほとんど差は認められなかった。これらのことは、プロテアソームの NLS 依存的な核移行がストレスによって亢進していること、プロテアソームサブユニットが細胞質内で複合体を形成した後、核内に運ばれる可能性を示唆している。次に、HXAdNLS 細胞の Topo II α の発現レベルを検討したところ、グルコース飢餓環境下における Topo II α 発現低下が抑制されており、Topo II 標的抗がん剤の耐性誘導も減弱していた。以上の結果から、ストレス環境下ではプロテアソームが核内に蓄積し、核内における Topo II α の効率的な分解に寄与している可能性が示唆され、固形がん内部のストレスによる Topo II 標的抗がん剤耐性にプロテアソームの核内蓄積が関与していることが示された。

本研究は、固形がん内部のグルコース飢餓や低酸素ストレスによって誘導される Topo II 標的抗がん剤耐性にプロテアソームが関与すること、特にストレス環境下で核内に蓄積したプロテアソームが耐性誘導に重要な役割を果たしていることを明らかにした。本研究は、プロテアソームが抗がん剤耐性克服の新たな分子標的となることを世界に先駆けて示したものであり、临床上重要な固形がんに対する抗がん剤の効果増強及び耐性克服法の開発に重要な知見を与えるものであり、博士 (薬学) の学位に値するものと判断した。