

[課程—2]

審査の結果の要旨

氏名 坂本 啓

本研究は転写因子である Nuclear factor-kappaB (NF-κB)の活性上昇が消化管癌において果たす役割を明らかにするため、ヒト大腸癌細胞株及び大腸癌切除検体を用いて解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. NF-κB の活性が上昇したヒト大腸癌細胞株を検索し、その活性を NF-κB シグナルの因子の一つである IKKγの siRNA を用いて抑制した細胞株 (以下 KD と略) を作成した。 *In vitro* では KD では、元の細胞 (以下 control と略) に比べ、TNFαおよび5-FU の刺激により細胞死が誘導されやすくなっており、既報を支持する結果を得た。
2. control と KD における転写遺伝子の違いをマイクロアレイを用いて検索し、IL-8 などのケモカインの転写レベルが KD において著明に抑制されている現象を見出した。また、実際のケモカインの分泌レベルを control、KD で比較し、IL-8、Gro、MCP-1 などが control に比べて KD で低下する傾向にあることを示した。IL-8、MCP-1 のレベルについては大腸癌切除検体においても検討し、それらケモカインレベルが癌組織においても非癌組織に比べて高レベルに検出されることがある (約 30%) ことを示した。
3. control が培養液中に放出する因子が血管新生作用を持ち、その作用は KD において著明に抑制されることを HUVEC を用いた実験により示した。また、control および KD の培養液をゲル化してマウスの皮下に移植し、control の群では、KD 群に比べて著明に血管が誘導されることを明らかにした。血管新生因子として既報に見られる IL-8 および MCP-1 の分泌が KD において低下していたことから、*in vitro* でそれらの siRNA を用いた実験で検討したが、IL-8 または MCP-1、もしくはその両方を抑制したいずれの場合にも、血管新生作用の低下は KD の上清で見られたレベルには達しなかった。この結果から、NF-κB の活性を抑制することで、個々の血管新生因子を抑制した場合より、効率的な血管新生抑制作用を期待できる可能性を示した。
4. Control および KD をヌードマウスの皮下に移植し、経時的に腫瘍の体積を測定したところ、KD の腫瘍体積は control の腫瘍体積に比べて有意に抑制されていた。また、腫瘍中の細胞死は KD の腫瘍において亢進し、腫瘍内の血管は KD において抑制されていることが判明した(52 日目で 23%に抑制)。
5. Control および KD のヌードマウス皮下移植もでるに 5-FU を腹腔投与したところ (腫瘍径が 5mm になった時点から 1 日目、12 日目、19 日目)、KD において著明な腫瘍増殖抑制効果を認め、観察期間中にほとんど腫瘍増殖は認めず、腫瘍体積は control 群

(5-FU 投与なし) の 6%まで抑制されていた (35 日目)。

以上、本論文は NF- $\kappa$ B の活性が上昇した大腸癌細胞が、*in vivo* および *in vitro* において抗アポトーシス能、血管新生能を発揮することを示すことができた。また、NF- $\kappa$ B の活性を抑制することで *in vivo* において 5-FU にたいする感受性が増大することも示すことができた。NF- $\kappa$ B 活性が上昇することによる *In vitro* における抗アポトーシス能、血管新生能、化学療法耐性能の亢進は既報を支持するものであり、*in vivo* においてそれらの作用が再現されることを示したことは本論文における新たな報告である。また、これらの結果から、NF- $\kappa$ B 活性の抑制が抗腫瘍効果に有利に働く可能性を示唆することができた。

本研究は今後の抗腫瘍治療の開発に新たな展開をもたらす可能性を提示しており、学位の授与に値するものと考えられる。