

審査の結果の要旨

氏名 佐々木 和人

本研究は、抗癌剤の感受性低下のメカニズムの一つとして、細胞内の分解系システムであるオートファジー(AP)に着目し、AP阻害薬として抗マラリア薬や抗リウマチ薬として使用されているクロロキン(CQ)に注目し、大腸癌治療の中心的薬剤である5-fluorouracil(5-FU)の感受性に対するCQ併用の有用性について *in vitro*、*in vivo* の両面から検討を行い、下記の結果を得ている。

1. 大腸癌細胞(HT-29)の抗癌剤感受性に及ぼすCQの影響

- ① CQ併用により、5-FUの増殖抑制効果の著明な増強を認めた。
- ② CQ併用は、5-FU誘導性APを抑制し、主に高度のG0/G1期停止を誘導して5-FUの抗腫瘍効果を増強した。細胞周期の解析にて、5-FU単独においては、G1期からS期への進行を阻害するp21^{Cip1}、p27^{Kip1}の発現が低下し、G1期からS期への進行を促進するサイクリン依存性キナーゼ2の発現が増加したが、CQ併用により、これらのタンパクの量的変化が抑制されることが判明した。

2. 大腸癌皮下移植モデルの抗癌剤感受性に及ぼすCQの影響

- ① マウス大腸癌細胞株 colon26 の皮下移植腫瘍モデルにおいて、5-FU単独群では明らかな抗腫瘍効果は示さなかったが、5-FUとCQの併用により、腫瘍の成長が有意に抑制されることが示された。また、大腸癌皮下移植モデルにおいても、CQ併用は5-FU誘導性APを抑制することが示された。
- ② TUNEL染色によるアポトーシスの解析を行ったところ、5-FUとCQの併用群では、control群、5-FU単独群と比較して有意なアポトーシスの増加を認めた。また、腫瘍組織由来のタンパク成分をWestern blotにて解析したところ、5-FU単独群では、プロアポトーシスタンパク Bax の増加と抗アポトーシスタンパク Bcl-2 の低下を認めたが、この変化はCQ併用により顕著になることが示された。

さらに、5-FU と CQ の併用により、プロアポトーシスタンパク Bad の有意な増加を認めた。以上より、大腸癌皮下移植モデルにおいては、CQ は 5-FU 誘導性 AP を抑制し、5-FU によって誘導される腫瘍細胞のアポトーシスを増強することによって、その抗腫瘍効果を増強していると考えられた。

以上、本論文は AP が大腸癌細胞の抗癌剤の感受性低下に関して重要な役割を担っていることを確認した。また、大腸癌細胞において、CQ による AP 阻害が 5-FU の抗腫瘍効果を増強することが示された。本研究は、大腸癌の新たな治療戦略を提唱する重要な研究であり、化学療法の治療成績を向上させ得る新たな戦略を提唱する研究であると考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。