

平成22年1月

井上雅史 学位論文審査要旨

主査 汐田剛史
副査 井藤久雄
同 池口正英

主論文

Intraperitoneal administration of a small interfering RNA targeting nuclear factor-kappa B with paclitaxel successfully prolongs the survival of xenograft model mice with peritoneal metastasis of gastric cancer

(NF- κ B siRNAとpaclitaxel併用腹腔内化学療法がヒト胃癌腹膜播種モデルマウスの生存期間を有意に延長させた)

(著者：井上雅史、松本幸子、齊藤博昭、辻谷俊一、池口正英)

平成20年 International Journal of Cancer 123巻 2696頁～2701頁

学 位 論 文 要 旨

Intraperitoneal administration of a small interfering RNA targeting nuclear factor- κ B with paclitaxel successfully prolongs the survival of xenograft model mice with peritoneal metastasis of gastric cancer

(NF- κ B siRNAとpaclitaxel併用腹腔内化学療法がヒト胃癌腹膜播種モデルマウスの生存期間を有意に延長させた)

目 的

胃癌の予後は改善傾向にあるとはいえ、その数は全癌死のうち2番目の位置にある。胃癌の再発形式は腹膜再発が最も多い。この腹膜再発に対して腹腔内化学療法を行い、治療効果を高めた報告はあるものの満足な結果とは言えない。腹膜再発をターゲットとした治療の開発が必要と考えられる。一方、同一抗癌剤使用により腫瘍内のnuclear factor- κ B (NF- κ B)発現が上昇し、これに伴って抗アポトーシス蛋白発現が上昇することが報告されており、この事象が腫瘍細胞の抗癌剤耐性獲得の一因であると考えられている。本研究では、最近癌治療にも応用されるようになったsmall interfering RNA (siRNA)に着目した。siRNAを腹腔内投与しNF- κ Bを抑制することで腹腔内化学療法の効果を高めることを目的とし研究を行った。

方 法

*in vitro*において、ヒト胃癌細胞株MKN1、MKN45でのイリノテカン投与時におけるNF- κ B p65の細胞内局在の変化、発現量をウェスタンブロット法を用いて検討した。次に、NF- κ B p65のsiRNAを培養液に添加し、胃癌細胞内におけるNF- κ Bタンパク発現の抑制状態を、ウェスタンブロット法で調べ、アネキシン染色により胃癌細胞のアポトーシス増強効果を検討した。ヌードマウスの腹腔内にMKN45を接種し、ヒト胃癌腹膜転移モデルを作成し、蛍光色素で標識したsiRNAを腹腔内投与して腹膜転移巣へ取り込まれることを確認した。また、腫瘍のNF- κ Bに対する免疫染色を行い実際に発現が低下していることを確認した。最後にヌードマウスのヒト胃癌腹膜転移モデルに対して腹腔内にパクリタキセルの投与を行い、この群とsiRNAを併用投与した群とで生存率を比較した。

結 果

*in vitro*の実験で、NF- κ Bは非活性化の状態で細胞質内に存在しているが、抗癌剤に暴露させると核内に移動し活性化された。抗癌剤に暴露した胃癌細胞に対して、liposomeを

付加したNF- κ BのsiRNAを細胞内に導入すると、胃癌細胞のNF - κ B発現は著明に抑制され、preG1期の延長を認め、アネキシン染色陽性のアポトーシス細胞が増加した。in vivoの実験では、蛍光色素で標識したsiRNAは腹膜転移結節の表面より腫瘍内部へ導入された。また、免疫染色でも結節表面のNF - κ B発現は抑制された。ヒト胃癌腹膜転移モデルのヌードマウスでは、パクリタキセル単独群に比べ、パクリタキセル+NF- κ B siRNA群の予後が著明に延長した。

考 察

siRNAをいかにターゲットに到達させるか、その導入効率が問題になることが多い。今回 liposome/NF- κ B siRNAを腹腔内投与することでNF- κ Bの発現を抑制させることに成功した。これは、腹腔内という限局された空間で、高濃度のsiRNAをある一定期間暴露することができたことが大きな要因であったと考えられる。この方法は単純で繰り返し可能なこと、全身投与より副作用が少ないことより臨床応用も可能と考えられる。今回の研究では結節表面のNF - κ B発現を抑制させたが、さらに導入効率が高められれば化学療法効果をさらに高めることが可能と考えられる。

結 論

liposome/NF- κ B siRNAとパクリタキセルを腹腔内投与することでヒト胃癌腹膜転移モデルマウスの生存期間を著明に延長することができた。今後、導入効率等の向上など更なる検討により、臨床応用の可能性も期待される。