

平成23年12月

# 畑田智子 学位論文審査要旨

主 査 清 水 英 治  
副主査 難 波 栄 二  
同 池 口 正 英

## 主論文

Inhibition of nuclear factor- $\kappa$ B activity by small interfering RNA in esophageal squamous cell carcinoma cell lines

(食道扁平上皮癌培養細胞におけるsiRNAを用いたNF -  $\kappa$  Bの抑制)

(著者：畑田智子、檜垣克美、難波栄二、建部茂、池口正英)

平成23年 Oncology Reports 26巻 659頁～664頁

# 学 位 論 文 要 旨

Inhibition of nuclear factor- $\kappa$ B activity by small interfering RNA in esophageal squamous cell carcinoma cell lines

(食道扁平上皮癌培養細胞におけるsiRNAを用いたNF -  $\kappa$ Bの抑制)

Nuclear factor- $\kappa$ B(NF -  $\kappa$ B)は転写因子であり、腫瘍の発生、増殖への関与が報告されている。このNF -  $\kappa$ B発現を抑制するsmall interfering RNA(siRNA)を抗癌剤とともに投与した場合の、食道扁平上皮癌への影響を検討した。

## 方 法

実験には扁平上皮癌の培養細胞である (TE4, TE8) を用いた。はじめに培養細胞におけるNF -  $\kappa$ Bの発現を確認した。この培養細胞に抗癌剤 (5-FU) とともにNF -  $\kappa$ B siRNAを投与した場合の細胞増殖をBrdU assayにて評価した。また細胞のアポトーシスとNF -  $\kappa$ Bの活性化の測定をそれぞれcaspase活性測定ならびにLuciferase assayにて評価した。次にこの培養細胞に、サイトカインであるTNF  $\alpha$ を暴露することでNF -  $\kappa$ Bを活性化した状態で同様の実験を行った。

## 結 果

TE4, TE8でNF -  $\kappa$ Bが主に細胞質内に発現していることを確認した。この培養細胞にNF -  $\kappa$ B siRNAを投与することで、NF -  $\kappa$ Bの発現は抑制された。また、抗癌剤とNF- $\kappa$ B siRNAの併用投与を行うと、抗癌剤の抗腫瘍効果を有意に増強するとともに、癌細胞にアポトーシスを誘導した。培養細胞にTNF  $\alpha$ を投与することでNF -  $\kappa$ Bは細胞質から核内へ移り活性化した状態となり、細胞 (TE4, TE8) の増殖活性は増強した。この状態でも培養細胞に5-FUとNF -  $\kappa$ B siRNAを併用することにより高い細胞増殖抑制効果が得られた。

## 考 察

食道癌は手術療法、化学療法、放射線療法の進歩にも関わらず、いまだ予後不良の疾患であり、化学療法への耐性もみられる。この化学療法においては5-FUが一般的な治療薬である。様々な癌の増殖過程においてNF -  $\kappa$ Bの関与が報告されている。鳥取大学医学部附属

病院での食道癌患者においても転写因子であるNF- $\kappa$ Bの陽性例と陰性例で予後を比較すると、陽性例でより予後が不良であることが判明した。以上より、NF- $\kappa$ Bが予後や薬剤の耐性に関与することが推測された。NF- $\kappa$ BはI $\kappa$ Bと結合した状態で細胞質に非活性化の状態で存在する。そこにTNF $\alpha$ などの外部刺激が加わるとNF- $\kappa$ Bは核内へ移り活性化した状態で、アポトーシスの抑制や化学療法耐性などに関与する。本実験では、5-FUとNF- $\kappa$ B siRNAの同時投与により、癌細胞のNF- $\kappa$ Bの活性化が抑制され、食道癌細胞増殖も著明に抑制された。

切除標本においては、NF- $\kappa$ Bは核内に発現がみられた、一方培養細胞では、NF- $\kappa$ Bの発現は細胞質に認められた。培養細胞にTNF $\alpha$ を投与すると、NF- $\kappa$ Bが核内へ移動するので、本実験がより臨床状態に近いと考えることができる。

本研究では、NF- $\kappa$ B siRNAが5-FUの抗腫瘍効果を増強し、難治性癌である食道癌治療に有効である可能性が示唆された。

## 結 論

siRNAを用いることでNF- $\kappa$ Bの活性を抑え、食道扁平上皮癌培養細胞の細胞増殖を抑制した。5-FUの効果はTNF $\alpha$ によって減弱されたが、NF- $\kappa$ B siRNAを併用することで5-FUの効果を増強できた。5-FUとNF- $\kappa$ B siRNAの併用療法は食道扁平上皮癌治療の選択肢の一つとなると期待される。