

平成19年12月

# 川口稚恵 学位論文審査要旨

主査	池口正英
副主査	紀川純三
同	寺川直樹

## 主論文

Simultaneous inhibition of the mitogen-activated protein kinase kinase and phosphatidylinositol 3'-kinase pathways enhances sensitivity to paclitaxel in ovarian carcinoma

(MAPKKおよびPI3Kシグナル伝達経路の同時阻害は上皮性卵巣癌に対するパクリタキセル感受性を増強する)

(著者：川口稚恵、板持広明、紀川純三、金森康展、大石徹郎、島田宗昭、佐藤慎也、下雅意、佐藤誠也、寺川直樹)

平成19年12月 Cancer Science 98巻 2002頁～2008頁

# 学 位 論 文 要 旨

**Simultaneous inhibition of the mitogen-activated protein kinase kinase and phosphatidylinositol 3'-kinase pathways enhances sensitivity to paclitaxel in ovarian carcinoma**

**(MAPKKおよびPI3Kシグナル伝達経路の同時阻害は上皮性卵巣癌に対するパクリタキセル感受性を増強する)**

パクリタキセル (PTX) を主体とした併用化学療法は進行卵巣癌患者の予後を改善したものの、その5年生存率は30%に止まっている。PTXは微小管の $\beta$ -tubulinサブユニットに結合し、その重合を安定化させることで抗腫瘍効果を発揮する。また、PTXは細胞内の様々なシグナル伝達経路を活性化することが知られており、MEK/ERKやPI3K/Akt経路は細胞の増殖と生存を促すとともに、アポトーシスを抑制する。卵巣癌における抗癌剤耐性にPI3K/Akt経路の亢進が関与するとの報告がある。

したがって本研究では、上皮性卵巣癌に対するMEKおよびPI3K阻害剤がPTX感受性に与える影響を検討した。

## 方 法

卵巣漿液性腺癌由来細胞株5株 (KF、KFTx、SHIN-3、KOC-2S、SK-OV-3) を用いて、PTXに対する感受性をMTT assayで検討するとともに、MEK阻害剤であるPD-98059 (PD) およびPI3K阻害剤であるLY294002 (LY) とPTXとの併用効果をmedian-effect法により評価した。薬剤添加後のアポトーシスはAnnexin Vを用いた蛍光免疫染色とDNA ladderingにより検索した。薬剤添加前後のMEK、リン酸化MEK (pMEK)、Aktおよびリン酸化Akt (pAkt) 蛋白発現をWestern blot法で検索した。

次に、KOC-2S細胞およびSK-OV-3細胞をヌードマウス腹腔内に注入して卵巣癌癌性腹膜炎モデルを作製し、PTXとPDおよびLYとの併用効果を検討した。各薬剤は移植4日後から投与開始し、毎週の計4回腹腔内投与した。移植4週後の腹腔内腫瘍総重量を測定し、pMEKおよびpAkt蛋白発現を免疫組織化学およびWestern blot法で検索した。生存率はKaplan-Meier法で、有意差はlog-rank法を用いて検討した。

## 結 果

PTX感受性は細胞株により大きく異なった。pMEKおよびpAkt蛋白発現はすべての細胞株で観察された。PTX添加によりpMEK蛋白は増加したものの、pAkt蛋白発現には変化がみられなかった。PTXとPDあるいはLYとの併用添加では細胞増殖抑制作用は相加効果に止まったが、PTXとPDおよびLY両剤との併用では相乗効果が得られた。また、これら3剤の併用添加では、PTX単剤あるいはPTXとPDまたはLYとの併用添加に比較して有意にアポトーシス細胞が増加した。一方、PTX添加により増加したpMEK蛋白はPD添加により抑制されたが、pAkt蛋白の増加を認めた。PDとLYの併用添加はpMEKとpAkt蛋白発現を抑制した。

卵巣癌癌性腹膜炎モデルにおいて、腫瘍組織中のpMEKおよびpAkt蛋白発現はPDおよびLYの併用添加により抑制された。PTXとPDおよびLY併用投与群の腹腔内腫瘍総重量はPTX単独投与群に比して有意に小さく、平均生存期間も有意に長かった（52日 vs. 38日）。

## 考察と結論

MEK/ERK経路は様々な受容体型チロシンキナーゼにより活性化され、細胞の増殖や分化を誘導する。また、この経路の活性化が細胞分裂の際に必要なとされており、PTXなどの微小管作用薬によるMEK/ERK経路活性化の一因であると考えられている。今回の検討においても、PTX投与後にpMEK蛋白発現が増加した。一方、MEK/ERK経路の阻害剤はPTX感受性を増強させるとする報告が散見されるが、PTXとMEK阻害剤であるPDとの併用は相加効果に止まった。

PI3K/Akt経路の活性化は細胞増殖や細胞死をコントロールし、抗癌剤耐性に関与すると考えられている。PI3K/Akt経路の阻害はPTXによる細胞死誘導を増強する可能性が示されているが、今回の検討では、PTXとPI3K阻害剤であるLYとの併用は相加効果に止まった。しかしながら、PTXにPDおよびLYを併用添加することによって著明な細胞増殖抑制効果がみられ、これら3剤の併用は相乗効果であることが確認された。PTXとPDとの併用によりpAkt蛋白は増加したが、LYを追加することによってpAkt蛋白発現は抑制された。MEK/ERK経路とPI3K/Akt経路との相互作用が示唆されており、本研究と同様に、MEK/ERK経路の阻害によってAktが活性化することが最近になって報告されている。このPI3K/Akt経路の活性化は、PTXによる細胞死を抑制した可能性が考えられる。したがって、PD添加により活性化されるPI3K/Akt経路をLYの同時添加で阻害することが、PTXによる著明な細胞死を誘導するために必要であることが示唆された。

ヌードマウスを用いた卵巣癌癌性腹膜炎モデルにおいても、PTXとPDおよびLYとの併用投与はPTX単独投与に比して有意な平均生存期間の延長をもたらした。以上の成績より、卵巣

癌におけるPTXの感受性増強には、MEK/ERK経路とPI3K/Akt経路の同時阻害が有効であることが示された。今後、この併用療法が卵巣癌患者の予後を改善することが期待される。