

氏名	いしばし みなこ 石橋 美名子
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	甲第521号
学位授与年月日	平成17年 3月11日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	The cyclooxygenase inhibitor indomethacin modulates gene expression and represses the extracellular matrix protein laminin $\gamma 1$ in human glioblastoma cells (シクロオキシゲナーゼ阻害剤インドメタシンはヒト膠芽腫細胞において遺伝子の発現を修飾し、細胞外マトリックスマラミン $\gamma 1$ の発現を抑制する)
学位論文審査委員	(主査) 大浜 栄作 (副査) 渡邊 達生 渡辺 高志

学位論文の内容の要旨

膠芽腫は原発性脳腫瘍の中で、発生頻度、悪性度が高く、最も治療困難で予後不良の腫瘍である。非ステロイド性抗炎症薬 (nonsteroidal anti-inflammatory drugs: NSAIDs)は、シクロオキシゲナーゼ活性を阻害し、また抗腫瘍効果のあることが知られているが、その詳細な作用機序は不明である。今回我々はこの機序の解明を目的として、ヒト膠芽腫細胞株を用いて、NSAIDsの一種であるインドメタシンの抗腫瘍作用のメカニズムを検討した。

方法

実験には、培養ヒト膠芽腫細胞および大腸癌細胞を用いた。suppression subtractive hybridization (SSH) 法、および differential screening display 法によって、インドメタシンによって発現が誘導または抑制される遺伝子を同定した。Northern blot 法により、これら遺伝子の発現を mRNA レベルで解析し、インドメタシンにより最も強く抑制される遺伝子を同定した。また、Western blot 法により、その蛋白の発現抑制とインドメタシンの濃度、作用時間との関連を検討した。さらに、インドメタシンを含む6種類のNSAIDsと、シクロオキシゲナーゼ活性を有するヒト膠芽腫細胞、および活性を有さない大腸癌細胞を用いて蛋白発現の変化を比較し、インドメタシンの作用がシクロオキシゲナーゼ依存性か非依存性かを検討した。最後に、invasion assay 法により、NSAIDsによる蛋白発現の抑制と、腫瘍細胞の浸潤能との関連を検討した。

結 果

SSH 法により、インドメタシンの投与によって U87MG 膠芽腫細胞で 3 つの遺伝子の発現が誘導され、ラミニン γ 1 を含む 4 つの遺伝子の発現が抑制された。Northern blot 解析では、ラミニン γ 1 遺伝子が最も著明な抑制を受けており、Western blot 解析では、インドメタシンを作用させた U87MG 膠芽腫細胞におけるラミニン γ 1 蛋白の発現抑制は、濃度および時間依存性であった。検討した 6 種類の NSAIDs のうち、この蛋白の発現を抑制したのは、インドメタシンとサリダックサルファイドのみであった。U87MG 以外の膠芽腫および大腸癌細胞でも、インドメタシン投与によりラミニン γ 1 蛋白発現抑制が見られたが、これらは各細胞株のもつシクロオキシゲナーゼ活性とは相関しなかった。invasion assay では、インドメタシンはラミニン γ 1 を抑制する濃度で、膠芽腫細胞の浸潤を阻害し、その阻害作用は、ラミニン γ 1 鎖を含むヒトラミニン蛋白の同時投与により減弱した。

考 察

本研究により、インドメタシンはラミニン γ 1 遺伝子を最も強く抑制し、その蛋白発現の抑制はインドメタシンの濃度および時間依存性であること、抑制のメカニズムはシクロオキシゲナーゼ非依存性であること、さらにインドメタシンは膠芽腫細胞の浸潤を阻害することが示された。膠芽腫の悪性度は腫瘍細胞の増殖能と浸潤能の高さによるものであり、腫瘍細胞の浸潤の最初のステップは、腫瘍細胞が細胞外マトリックスへ接着することである。ラミニンはこの過程に重要な役割を演じている。本研究の結果から、インドメタシンはラミニン γ 1 蛋白の発現を抑制することによって膠芽腫細胞の浸潤を阻害することが示唆される。このことは、浸潤能が高く治療困難な膠芽腫に対する今後の治療戦略の重要な糸口になると思われる。

結 論

インドメタシンは、ヒト膠芽腫培養細胞において、シクロオキシゲナーゼ非依存性にラミニン γ 1 蛋白の発現を抑制することにより、腫瘍細胞の浸潤を阻害する。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、ヒト膠芽腫細胞を用いて、インドメタシンの抗腫瘍効果、浸潤抑制効果について検討したものである。まず、U87MG ヒト膠芽腫培養細胞を用いて、インドメタシンにより最も発現が抑制される遺伝子がラミニン γ 1 遺伝子であることを明らかにし、次いで最も発現の抑制を受けたラミニン γ 1 に対するインドメタシンの影響を、蛋白レベルで詳細に解析し、腫瘍細胞の浸潤に関連するとされるラミニン γ 1 の発現抑制は、インドメタシンの濃度および時間依存性であること、その抑制はシクロオキシゲナーゼ非依存性であることを明らかにした。さらに invasion assay によって、実際にヒト膠芽腫培養細胞の浸潤がインドメタシンによって抑制され、ラミニン γ 1 鎖

を含むヒトラミニン蛋白の投与により、この浸潤抑制効果が減弱することを示した。本論文の内容は、浸潤能が著しく高く、最も予後不良の脳腫瘍である膠芽腫に対する治療に、インドメタシンが有効であること、およびラミニン γ 1の抑制は腫瘍細胞の浸潤抑制効果があることを示唆したものであり、明らかに学術の水準を高めたものと認める。