

平成19年2月

森田正人 学位論文審査要旨

主 査 村 脇 義 和
副主査 渡 邊 達 生
同 清 水 英 治

主論文

Dexamethasone inhibits paclitaxel-induced cytotoxic activity through retinoblastoma protein dephosphorylation in non-small cell lung cancer cells
(非小細胞肺癌においてデキサメタゾン[®]はRB蛋白脱リン酸化によりパクリタキセルの細胞障害活性を抑制する)

(著者：森田正人、陶山久司、井岸正、重岡靖、小谷昌広、橋本潔、武田賢一、澄川崇、清水英治)

平成19年1月 International Journal of Oncology 30巻 187頁～192頁

学 位 論 文 要 旨

Dexamethasone inhibits paclitaxel-induced cytotoxic activity through retinoblastoma protein dephosphorylation in non-small cell lung cancer cells (非小細胞肺癌においてデキサメタゾンはRB蛋白脱リン酸化によりパクリタキセルの細胞障害活性を抑制する)

現在、肺癌は全世界中で主たる死亡原因となっている。パクリタキセル (PTX) は第三世代抗癌剤に含められる抗癌剤で非小細胞肺癌を含む多くの固形癌治療に頻用されている。PTXの主たる標的は細胞周期のM期における微小管の脱重合阻害であるとされているが、細胞障害の機序は完全には明らかになっていない。

PTXの使用において臨床上問題となる過敏性反応を防ぐためにグルココルチコイドが常用されている。グルココルチコイドは多くの細胞でG1期に細胞周期を停止させ生存効果やアポトーシスを抑制するといわれている。従って、グルココルチコイドの前処置がPTXによる化学療法に与える影響を評価することは重要である。

レチノブラストーマ蛋白 (pRB) は細胞周期進行の制御因子の一つである。pRBのリン酸化は細胞周期をG1期からS期への導入する際に重要な役割を占めている。先の研究で我々は非小細胞肺癌株においてpRBのリン酸化によってもたらさせられる細胞周期進行がPTX感受性に重要であることを報告した。本研究では肺腺癌細胞株を用いてグルココルチコイドが細胞周期とPTXの細胞障害活性に与える影響を検討した。

方 法

ヒト肺腺癌細胞株A549を用いて、細胞増殖に対するデキサメサゾン (DEX) の影響およびPTXの細胞障害活性をMTT アッセイで、ERK、AKT、pRBのリン酸化をwestern blotting (WB) 法で、細胞周期をflow cytometryで解析した。

結 果

A549をDEX 1.0 μ M以上の濃度で48時間処理したところ、細胞増殖が抑制された。DEX 10 μ Mが最大増殖阻害効果を示したため、この濃度を以下の実験に採用した。また、MTTアッセイにおいてDEX 10 μ Mによる前処理により明らかにPTXの細胞障害性活性は抑制された。次にDEXとPTXによる細胞周期への影響を検討した。DEX 10 μ Mで12時間、PTX 5nMで48時間

またはその組み合わせで評価した。DEX処理によりG1期の細胞は増加した。PTX処理ではG1期の細胞が減少しsub-G1の細胞が増加した。DEX 12時間前処理後にPTX 48時間処理した場合はG1期の細胞増加とsub-G1細胞減少が認められ、アポトーシスと細胞周期進行の抑制が認められた。

次に、WB法でDEXとPTX処理によるA549のpRBリン酸化状態を検討した。PTX 5nM処理ではpRBリン酸化状態に影響を与えなかったが、DEX 10 μ M 12時間処理ではpRBのリン酸化は完全に抑制された。これらの結果からDEXを用いて12時間前処理を行うことによりpRBの脱リン酸化を導きPTXによる細胞障害活性を抑制すると考えられた。

更にERKの特異的阻害剤であるPD98059とAKTの特異的阻害剤であるLY294002を用いてDEXとPTXによるERKおよびAKTへの影響を検討した。A549をPD98059およびLY294002で処理するとどちらの場合でもpRBのリン酸化は抑制された。DEX処理ではPD98059処理と同様にERKの活性を抑制したがAKTに対する影響は認められなかった。PTXとPD98059またはLY294002を併用した場合、PTXの細胞障害活性を阻害した。

考 察

A549においてDEX前処理はPTXの細胞障害活性を抑制した。PTXはM期の細胞に作用してアポトーシスを誘発すると考えられている。従ってDEX前処理によるPTXの細胞障害活性抑制効果はDEXによる細胞周期進行の抑制が重要な機序であると考えられた。

さらに、DEXによるpRBへの影響と細胞増殖と生存の重要な経路であるERKとAKTへの影響を特異的阻害剤を用いて検討された。A549ではDEXによるERKの抑制およびpRBの脱リン酸化がPTXの細胞障害活性を阻害する機序であると考えられた。

過去の報告ではERKやAKT経路の阻害によりPTXの細胞障害活性増強効果を示したのものもある。どちらも細胞の増殖や生存に関与する重要な経路であるが、多くのがん細胞では細胞周期調節機構に異常をきたしていると考えられるため、このような場合はERKやAKTの抑制が細胞周期進行に影響を及ぼすことなくPTXの細胞障害活性を増強すると考えられる。一方、ERKやAKTの抑制がpRB脱リン酸化によるG1期での細胞周期停止をもたらす場合には、PTXに感受性のあるM期の細胞分画減少を介してPTXの細胞障害活性を抑制すると考えられた。

結 論

pRBのリン酸化はPTXに対する感受性に重要である。A549ではDEX前処置によりERKを介してpRBのリン酸化を抑制し、細胞周期の進行を抑制することでPTXの細胞障害活性を阻害すると考えられた。