

三宅直美 学位論文審査要旨

主査 富田修平
副主査 池口正英
同 清水英治

主論文

Rapamycin induces *p53*-independent apoptosis through the mitochondrial pathway in non-small cell lung cancer cells

(ラパマイシンは非小細胞肺癌細胞においてミトコンドリアを介した*p53*非依存的アポトーシスを誘導する)

(著者：三宅直美、千酌浩樹、高田美也子、中本成紀、井岸正、清水英治)

平成24年 Oncology reports 28巻 848頁～854頁

参考論文

1. Lack of AKT activation in lung cancer cells with EGFR mutation is a novel marker of cetuximab sensitivity

(EGFR変異肺癌細胞におけるAKT活性化の欠如はセツキシマブ感受性の新規マーカーである)

(著者：高田美也子、千酌浩樹、三宅直美、足立香織、金森康展、山崎章、井岸正、鰐岡直人、難波栄二、清水英治)

平成24年 Cancer Biology & Therapy 13巻 369頁～378頁

2. Diagnostic and prognostic impact of serum-soluble UL16-binding protein 2 in lung cancer patients

(肺癌患者における血清可溶性UL16結合タンパク質2の診断および予後への影響)

(著者：山口耕介、千酌浩樹、清水飛鳥、高田美也子、木下直樹、橋本潔、中本成紀、松永慎司、倉井淳、三宅直美、松本慎吾、渡部仁成、山崎章、井岸正、鰐岡直人、清水英治)

平成24年 Cancer science 103巻 1405頁～1413頁

学 位 論 文 要 旨

Rapamycin induces *p53*-independent apoptosis through the mitochondrial pathway in non-small cell lung cancer cells

(ラパマイシンは非小細胞肺癌細胞においてミトコンドリアを介した*p53*非依存的アポトーシスを誘導する)

mTORはPI3K/AKTの下流系に位置し、細胞分裂や成長、生存における調節因子としての役割を担っている。ラパマイシンは、マクロライド系の物質であり、mTOR阻害剤の一つである。近年、ラパマイシンなどのmTOR阻害剤は、他の抗腫瘍薬との併用薬として用いられ、現在、肺癌においては、EGFR阻害剤とmTOR阻害剤の併用による臨床試験が行われている。ラパマイシンの一般的な抗腫瘍効果として、細胞増殖抑制、アポトーシス誘導が報告されている。アポトーシスは細胞死の一つであり、*p53*が活性化されミトコンドリアを介した経路 (*p53*依存性)、*p53*の活性化を伴わないミトコンドリアを介した経路 (*p53*非依存性)、あるいはミトコンドリアを介さない経路が報告されている。しかし、肺癌細胞においてラパマイシンが、アポトーシスを誘導するのか否か、誘導すると仮定した場合、どの経路により誘導するのか、これまで明らかにされていない。そこで、今回、*p53*変異型肺癌細胞におけるラパマイシン単剤による抗腫瘍効果としてアポトーシス誘導に注目し、アポトーシスの誘導機序を解明することを目的とし検討を行った。

方 法

肺癌細胞である*p53*変異型の非小細胞肺癌細胞 (NSCLC) 5株を用いた。ラパマイシンによる細胞増殖抑制は、WST-8法により検討した。アポトーシス検出としては、FACSによる細胞膜のホスファチジルセリンの分布変化を検出するAnnexin-V法を用い、アポトーシス制御因子である活性型カスパーゼ3をELISA法により検出した。そして、シトクロムc (アポトーシス促進因子) とBcl-2 (アポトーシス抑制因子) の検出は、ミトコンドリア分画を行い、ウェスタンブロッティング法を用いた。

結 果

ラパマイシンは、肺癌細胞5株すべてにおいて、細胞増殖抑制、アポトーシス誘導を示した。ラパマイシン処理によるアポトーシスの誘導経路として、アポトーシス抑制因子であ

るBcl-2がミトコンドリア内および細胞質において抑制され、アポトーシス促進因子であるシトクロムcがミトコンドリア内から細胞質に放出されていることが確認できた。そして、放出されたシトクロムcによりアポトーシス実行因子であるカスパーゼ3が活性化され、アポトーシスによる細胞死が誘導されていることが明らかとなった。

考 察

*p53*は、活性化されると、ミトコンドリアを介したアポトーシスを誘導する因子である。今回用いた肺癌細胞は*p53*変異型であり、*p53*活性化によるアポトーシスを誘導する能力に欠けている。ラパマイシンによるアポトーシス誘導は、アポトーシス抑制因子であるBcl-2の発現が抑制され、その結果、アポトーシス促進因子であるシトクロムcがミトコンドリア内から細胞質へ放出促進されたことによるものである。そして、細胞質内のシトクロムc量が増加したことにより、アポトーシス実行因子であるカスパーゼ3が活性化され、アポトーシスが誘導された。よって、ラパマイシンは、肺癌細胞において*p53*非依存性のミトコンドリアを介したアポトーシスを誘導することが明らかとなった。以上のことから、肺癌細胞においてラパマイシンは、細胞増殖抑制、効率的なアポトーシス誘導の抗腫瘍効果を有し、抗腫瘍効果を高めるための併用薬としても有用であると考えた。

結 論

肺癌細胞においてラパマイシンは、細胞増殖を抑制し、アポトーシスによる細胞死を誘導する抗腫瘍効果を示した。そして、ラパマイシンによるアポトーシス誘導は、*p53*非依存性のミトコンドリアを介した、シトクロムc、Bcl-2の制御因子が関連したカスパーゼ活性によるものと判明した。以上のことより、mTOR阻害剤であるラパマイシンは、抗腫瘍薬として有効である。また、PI3K/AKT経路の下流系であるmTORを抑制することから、他の抗腫瘍薬との併用により、相乗・相加的な抗腫瘍効果を示す可能性がある。