

# 学位論文要約

Nicotine enhances the malignant potential of human pancreatic cancer cells via activation of atypical protein kinase C

(ニコチンは、非定型プロテインキナーゼCの活性化を介してヒト膵癌細胞の悪性度を高める)

(著者：花木武彦、堀越洋輔、中曾一裕、仲宗根正人、北川良憲、網崎正孝、荒井陽介、徳安成郎、坂本照尚、本城総一郎、齊藤博昭、池口正英、山下和成、大野茂男、松浦達也)

平成28年 Biochimica et Biophysica Acta 1860巻 2404頁～2415頁

喫煙は最も予後が悪いとされる膵癌においても、最も重大かつ独立した危険因子である。喫煙により体内に取り込まれるニコチンには、癌原性の報告はないものの、他癌腫同様に進展促進作用があるとの報告が近年散見される。しかしながら、ニコチンによる腫瘍進展促進の機序については未だ不明な点が多い。本研究では、膵癌細胞の増殖・浸潤・転移、そしてヒト膵癌においても発現上昇が確認され、予後とも相関があるとされる細胞極性制御タンパク質atypical protein kinase C (aPKC) に対するニコチンの作用について検討を行った。

## 方法

ヒト膵癌細胞株 (Panc1、BxPC3) を用いて、細胞増殖・移動・浸潤能に対するニコチンの作用を検討した。活性型aPKCは細胞膜に移行することが知られていることから、aPKCの細胞膜局在及びaPKCのキナーゼ活性に対するニコチンの作用を検討した。aPKC活性化の上流シグナルとしてphosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) の関与を検討した。また、ニコチンによる刺激が、ニコチンアセチルコリン受容体 (nAChR) を介していることを確認するためにnAChRをRNAiによりknock downし、ニコチンの作用について検討した。同様にaPKCをknock downした後、ニコチンの細胞増殖に対する影響を評価した。さらに、ヌードマウスを用いて、膵癌細胞の腹膜播種モデルを作製し、ニコチンの有無による播種状況と結節サイズの変化を肉眼的、組織学的に評価し、腫瘍結節内のシグナル分子及びaPKCの発現量の変化を免疫組織学的に検討した。

## 結 果

ニコチンは、膵癌細胞の増殖・移動・浸潤能を促進した。その過程において、ニコチンはaPKCの細胞形質膜への移行、別の細胞極性制御因子であるpartitioning defective-6との機能性複合体形成、及びaPKCのキナーゼ活性を亢進することが明らかになった。このニコチンによるaPKC活性化の上流シグナルを検討したところ、PI3Kシグナルが関与していることが明らかになった。また、ニコチンによるこれらの作用は、nAChR阻害剤、PI3K阻害剤、aPKC阻害剤、nAChRのknock downで抑制され、aPKCのknock downによっても、ニコチンによる膵癌細胞の増殖促進はキャンセルされた。さらに、腹膜播種モデルマウスにおいても、ニコチン投与により腫瘍結節数増加と結節径の増大が確認され、腫瘍結節内のaPKCとリン酸化Aktの発現量が増加することが明らかになった。

## 考 察

極性制御タンパク質として作用するaPKCは、その発現強度と予後の相関が膵癌も含めていくつかの癌腫で報告されている。ニコチンの活性代謝産物であるニコチン由来ニトロソアミンケトンによるaPKCの活性化とこれに伴う増殖促進作用が、ヒト肺癌細胞において報告されているが、ニコチンそのものによるaPKC活性化の有無については依然不明な点が多い。

本研究では、ニコチンによるnAChRを介したヒト膵癌細胞（Panc1、BxPC3）の増殖・移動・浸潤能の促進が確認され、これらの変化にPI3Kシグナルが関与していることが示された。また、経時的観察でニコチン刺激によるPI3Kシグナルの活性化に続いて、aPKCの細胞膜への移行や酵素活性の亢進が起こること、そして、PI3K阻害剤がaPKCに対するこれらのニコチンの効果を抑制したことから、PI3KはaPKC活性化の上流に位置していることが示唆された。aPKC阻害剤やaPKCのknock downでニコチンによる細胞増殖・移動・浸潤能の促進がキャンセルされたことから、aPKCはニコチンによる膵癌進展の重要な調節因子であることが示唆された。さらに、in vivoの膵癌モデルマウスにおいても、ニコチン投与群でPI3Kの活性化を裏付けるリン酸化Aktの発現量増加とaPKCの発現増加が腫瘍内で確認されたことから、ニコチンは、in vitro及びin vivoで、nAChR/PI3K/aPKCシグナルを介して膵癌進展に対して促進的に作用しているものと考えられた。

## 結 論

ニコチンは、nAChR刺激とPI3Kシグナルの活性化を介して、aPKCの細胞膜への移行及び活性化を促進し、膵癌細胞の増殖・移動・浸潤能を亢進させることが示された。