

論文審査の要旨

報告番号	総研第 590 号	学位申請者	品川 憲穂
審査委員	主査	杉浦 剛	学位
	副査	西谷 佳浩	副査
	副査	佐藤 友昭	副査
			博士 (歯学)
			松口 徹也
			嶋 香織

Combination of hydroxyurea and trinitost suppresses gemcitabine resistance induced by ribonucleotide reductase M1 in gemcitabine-resistant cells

(ゲムシタピン耐性細胞株においてヒドロキシウレアおよびトラニラストの併用はリボヌクレオチドリダクターゼ M1 がもたらすゲムシタピン耐性を抑制する)

がんの治療に放射線化学療法は重要であるが、薬剤耐性が治療の障害となっている。ゲムシタピン(GEM) は肺癌などに使用されている代謝拮抗性の抗癌薬である。リボヌクレオチドリダクターゼ(RR) は DNA 合成過程においてリボヌクレオチドをデオキシリボヌクレオチドへと変換する律速酵素で、リボヌクレオチドリダクターゼ M1(RRM1) および RRM2 との 2 つのサブユニットで構成されている。GEM はその 2 リン酸化体が RRM1 に結合し RR 活性を抑制し、またこれにより GEM 3-リン酸が DNA 鎖に効率よく組み込まれその伸長を停止させるという 2 つの作用で効果を示す。RRM1 の過剰発現は GEM 抵抗性の主要因であるといわれている。本研究において、肺癌細胞株および RR 阻害薬を用いて、RR の抑制が GEM 薬剤耐性克服の戦略となり得るか検討した。

[材料] RR 阻害薬: ヒドロキシウレア (HU: RRM2 抑制剤)、3-aminopyridine carboxaldehyde thiosemicarbazone (3-AP: RRM2 抑制剤)、トラニラスト (TRL: RRM1 の分解を誘導)

細胞: ヒト肺癌細胞株 MIA PaCa-2 (親株)、GEM 耐性ヒト肺癌細胞株 MGEM6、MGEM8

[方法] ①各細胞株に対して各 RR 阻害薬を処理し生存解析を行い、最大無毒性濃度を決定した。

②最大無毒性濃度の各 RR 阻害薬との併用により、GEM の感受性が上昇するかについて生存解析を行い検証した。

③各 RR 阻害薬の各細胞株に対する効果について、定量的 PCR および immunoblotting を行い、RRM1 および RRM2 の mRNA およびタンパクの発現変化を調べた。

各細胞株に対する RR 阻害薬の最大無毒性濃度をそれぞれ HU:100 μ M、3-AP:0.1 μ M、TRL:30 μ M とした。最大無毒性濃度の各 RR 阻害薬の GEM との併用による生存解析において、HU および TRL は、GEM 耐性細胞株において GEM の効果を増強させた。また、HU と TRL 同時併用により、GEM の効果を更に増強させた。3-AP には併用による GEM の効果の増強を認めなかった。GEM 耐性細胞における無毒性濃度の各 RR 阻害薬は、HU により、RRM1 の mRNA、タンパクのレベルに変化を認めず、RRM2 の mRNA、タンパクの上昇を認めた。3-AP では RRM1、RRM2 共に mRNA、タンパクのレベルに変化は認めなかった。TRL では、RRM1、RRM2 の mRNA レベルは上昇したが、RRM1 タンパクは減少し、RRM2 タンパクは変化しなかった。

本研究において、無毒性濃度の HU または TRL あるいはその組み合わせは、RRM1 の過剰発現によって誘導された GEM 耐性肺癌細胞の GEM 抵抗性を抑制することができた。これらの結果から今後の GEM 耐性腫瘍に対する新たな化学療法の戦略の構築が期待できる。よって、本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。