

氏名	まつもとせいじ 松本成司
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	論医博第1905号
学位授与の日付	平成18年7月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	Efficacy of the third-generation bisphosphonate zoledronic acid alone and combined with anti-cancer agents against small cell lung cancer cell lines (第3世代ビスフォスフォネート製剤(zoledronic acid)単剤と抗癌剤併用での小細胞肺癌株に対する効果検討に関する研究)
論文調査委員	(主査) 教授 福島 雅典 教授 平岡 真寛 教授 三嶋 理晃

論 文 内 容 の 要 旨

小細胞肺癌は早期に遠隔転移をきたす最も悪性度の高い腫瘍の一つで、治療は放射線化学療法が主である。化学療法ではシスプラチン、エトポシド併用で奏功率は90%に達する。しかし高率に転移再発し、平均生存期間は病巣が一侧胸郭に限局する限局型(LD)で12~15ヶ月、病巣が一侧胸郭外に進展する進展型(ED)で8~10ヶ月である。そのためこの腫瘍に対する新たな効果的な治療法、治療薬剤が求められる。

ビスホスフォネート(BP)は元々、骨代謝を抑制する薬剤である。第2世代BPにてRAS関連蛋白の安定化に必要なファルネシル化、ゲラニルゲラニル化の抑制による細胞増殖シグナル伝達遮断、悪性腫瘍増殖抑制効果が報告された。そのためより骨吸収抑制の強い第3世代BPを用いることでより強力な抗腫瘍効果が期待されている。一方、慢性骨髄性白血病の分子標的薬剤であるイマチニブはBCR-ABLチロシンキナーゼのみならずc-kitチロシンキナーゼも選択にブロックする。c-kitチロシンキナーゼは小細胞肺癌の約40-60%に存在し、RAS関連蛋白による細胞増殖シグナル伝達の上流に位置する。したがって第3世代BPであるゾレドロン酸(ZOL)とイマチニブの併用効果が予想された。なおZOLはMHC非拘束性である $\gamma\delta$ T細胞を刺激増殖することも報告されている。

本論文の研究ではZOL単剤および他剤併用での直接的抗腫瘍効果および $\gamma\delta$ T細胞を介した間接的抗腫瘍効果を検討した。

ウエスタンブロットでZOLがヒト由来小細胞肺癌株に対しRAS関連蛋白の安定化に必要なファルネシル化、ゲラニルゲラニル化を濃度、時間依存性に抑制することを確認した。また、形態学およびフローサイトメトリーを用いた方法でZOLがヒト由来小細胞肺癌株のアポトーシスを誘導することを認めた。さらに12種類中8種類のヒト由来小細胞肺癌株の増殖を抑制した。In vivoにおいてZOLはヌードマウスの皮下に移植されたヒト由来小細胞肺癌株の増殖を抑制した。抗腫瘍効果を高めるため、他の抗癌剤との併用効果も検討した。パクリタキセル、エトポシド、シスプラチン、イリノテカンとの併用では相乗効果を認め、イマチニブとの併用では相加効果を認めた。

ZOLの $\gamma\delta$ T細胞に関する研究では、ヒト末梢血から分離した未処理の $\gamma\delta$ T細胞数と比較し、1 μ MのZOLにIL-2を加えた14日間の培養で $\gamma\delta$ T細胞数が298~768倍まで増加することを認めた。5 μ MのZOLで前処置を受けたヒト由来の小細胞肺癌、線維肉腫はZOL前処置を受けない群と比較し $\gamma\delta$ T細胞の作用を受けやすくなっていた。皮下移植、胸腔内病巣への効果を検証するため肺癌細胞にルシフェラーゼ遺伝子を導入、経時的に測定するモデルを確立し、同モデルを用いてin vivoでZOLとIL-2併用効果を確認した。

以上よりZOLの単剤および他剤との併用での直接的抗腫瘍効果および $\gamma\delta$ T細胞を介した間接的抗腫瘍効果を認め、臨床への応用が期待される。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

ビスホスフォネート(BP)は骨代謝を抑制するが、第2世代BPでRAS関連蛋白阻害による抗腫瘍効果が報告された。

一方、慢性骨髄性白血病の分子標的薬剤、イマチニブは小細胞肺癌の約40-60%に存在する c-kit チロシンキナーゼも選択的にブロックする。したがって第3世代BPのゾレドロン酸（ZOL）とイマチニブの併用効果が予想された。なおZOLはMHC非拘束性である $\gamma\delta$ T細胞を刺激増殖することも報告されている。

本論文の研究ではZOLの直接的抗腫瘍効果および $\gamma\delta$ T細胞を介した間接的抗腫瘍効果を検討した。

ZOLは小細胞肺癌株に対しRAS関連蛋白のフェニル化を濃度時間依存性に抑制、アポトーシスを誘導し、マウスの皮下に移植された小細胞肺癌株の増殖を抑制した。パクリタキセル、エトポシド、シスプラチン、イリノテカン併用で相乗効果を認め、イマチニブ併用で相加効果を認めた。

ZOL 1 μ MとIL-2の添加で $\gamma\delta$ T細胞数は298~768倍に増加、ZOL 5 μ M前処置を受けた小細胞肺癌、線維肉腫は $\gamma\delta$ T細胞の作用を受けやすくなった。皮下移植、胸腔内病巣への効果を検証するため肺癌細胞にルシフェラーゼ遺伝子を導入、経時的に測定するモデルを確立し、同モデルを用いてin vivoでZOLとIL-2併用効果を確認した。

以上の研究はZOLの悪性細胞に対する直接的抗腫瘍効果を明らかにし、 $\gamma\delta$ T細胞を介した間接的抗腫瘍効果を示唆した。

したがって、本論文は医学博士の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成18年5月18日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。