

京都大学	博士（医学）	氏名	玉里 滋 幸
論文題目	Nrf2/p-Fyn/ABCB1 axis accompanied by p-Fyn nuclear accumulation plays pivotal roles in vinorelbine resistance in non-small cell lung cancer (非小細胞肺癌のビノレルビン耐性における Nrf2/p-Fyn/ABCB1 と核内 p-Fyn の意義)		
(論文内容の要旨)			
<p>【背景と目的】病期分類Ⅱ期およびⅢ期非小細胞肺癌の術後補助療法としてシスプラチン/ビノレルビンは標準治療であるが、その生存率は十分ではなく、その原因のひとつとしてビノレルビンへの耐性が挙げられる。化学療法に対する耐性獲得機序には ATP-binding cassette (ABC) トランスポーターが関与していることが知られており、以前の研究で肺癌細胞のビノレルビン耐性において、ABC ファミリーの一つである ABCB1 と、Src family kinases (SFKs) の一つであるリン酸化 Fyn (p-Fyn) が重要であり、ビノレルビン耐性肺癌細胞においては integrin β3 が SFKs を制御していることを報告した。他方、Nuclear factor-erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) は ABC ファミリーを制御し、p-Fyn の核内集積を誘導することが知られている。そこで、ABCB1 と p-Fyn に加えて Nrf2 にも着目し、ビノレルビン耐性肺癌細胞株を用いて Nrf2、ABCB1、p-Fyn の相互関係を検討するとともに、肺癌手術後の臨床検体 104 例を用いて Nrf2、ABCB1、p-Fyn 発現の予後との関連を検討した。</p> <p>【方法】ビノレルビン耐性肺癌細胞は非小細胞肺癌細胞株である H1299 を持続的にビノレルビンに暴露させることにより作成した。ビノレルビン耐性肺癌細胞内の Reactive Oxygen Species (ROS) を、DCFH-DA 法を用いて定量した。H1299 とビノレルビン耐性肺癌細胞における Nrf2、ABCB1、p-Fyn の全分画および各細胞分画の発現量を、細胞分画法と western blotting により評価した。p-Fyn の細胞内局在を、免疫蛍光染色を用いて評価した。肺癌細胞株のビノレルビンに対する薬剤感受性を、Cell viability assay を用いて評価した。2002 年 12 月から 2018 年 12 月までに京都大学医学部附属病院呼吸器外科で肺葉切除以上の肺切除を施行した肺癌症例のうち、術後補助療法としてシスプラチン/ビノレルビンを投与した 104 症例を対象として Kaplan-Meier 法を用いて統計学的解析を行った。</p> <p>【結果】H1299 に持続的にビノレルビンを暴露することにより、細胞内に ROS formation がみられた。ビノレルビン耐性肺癌細胞においては、ABCB1 と Nrf2 が高発現しており、同時に p-Fyn の核内への集積が見られた。ABCB1 の発現は Nrf2 に依存していた。siRNA を用いて Nrf2 を抑制すると、ビノレルビン耐性肺癌細胞のビノレルビンに対する感受性が回復した。反対に、Nrf2 の分解を促進している Keap1 を阻害することにより Nrf2 の発現を亢進させると、ビノレルビン耐性肺癌細胞のビノレルビンに対する耐性が増加した。臨床検体における Nrf2、ABCB1、p-Fyn のそれぞれの陽性率は、Nrf2: 45% (47/104), ABCB1: 51% (53/104), p-Fyn: 46% (48/104) であった。無再発生存は Nrf2 (p=0.029) と ABCB1 (p=0.035) で、全生存は p-Fyn (p=0.040) で有意差が見られた。</p> <p>【結論】非小細胞肺癌のビノレルビン耐性において、Nrf2/p-Fyn/ABCB1 とこれに伴う p-Fyn の核内集積が重要である。臨床検体では、Nrf2 と ABCB1 は術後再発の、核内 p-Fyn は全生存の予後不良因子である。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

病期分類Ⅱ期およびⅢ期非小細胞肺癌の術後補助療法としてシスプラチン/ビノレルビンは標準治療であるが、その生存率は十分ではなく、ビノレルビンへの耐性が原因の一つである。肺癌細胞のビノレルビン耐性において、ABCB1 とリン酸化 Fyn (p-Fyn) が重要であり他方、Nrf2 は ABCB1 を制御し、p-Fyn の核内集積を誘導するとされている。そこで、本研究では、ビノレルビン耐性肺癌細胞株を用いて Nrf2、ABCB1、p-Fyn の相互関係を検討するとともに、肺癌手術後の臨床検体 104 例を用いて Nrf2、ABCB1、p-Fyn 発現と予後との関連を検討した。

ビノレルビン耐性肺癌細胞では ABCB1 と Nrf2 が高発現し、p-Fyn の核内への集積を認めた。ABCB1 の発現は Nrf2 に依存しており Nrf2 の活性を抑制あるいは促進すると、ビノレルビンに対する耐性が減弱あるいは増加した。臨床検体を用いた予後検討では、Nrf2 (p=0.029) と ABCB1 (p=0.035) の発現が無再発生存と、p-Fyn (p=0.040) の発現が全生存と有意な関係を認めた。

以上の研究は非小細胞肺癌のビノレルビン耐性機序の解明に貢献し、術後の予後予測に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）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、令和 4 年 11 月 24 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。