

京都大学	博士 (医学)	氏 名	長田 博光
論文題目	Inhibition of c-Jun NH ₂ -Terminal Kinase Switches Smad3 Signaling from Oncogenesis to Tumor-suppression in Rat Hepatocellular Carcinoma (ラット肝細胞癌において、c-Jun NH ₂ -Terminal Kinase 抑制は Smad3 経路を発癌から癌抑制へと転換させる)		
(論文内容の要旨)			
目的：これまで肝発癌に関わる様々な機序が報告されてきたが、ヒト肝癌において Smad3 のリン酸化が癌抑制から癌促進へシフトすることにより発癌に至ることが最近報告された。一方、以前より細胞または動物実験において肝発癌への関与が示唆されていた c-Jun NH₂-terminal kinase (JNK) に着目し、JNK 阻害剤 (SP600125) を用いて、肝発癌抑制を誘導することとその機序を明らかにすることを目的に以下の実験を行った。 方法：今回の研究での肝発癌モデルにはヒト肝癌と同様の臨床経過、発癌過程をとるとされる N-diethylnitrosamine (DEN) を用いた化学的誘導発癌モデルを採用した。4 週齢の雄性ウィスターラットに 100 ppm の DEN を 8 週間自由飲水させた後に 4 週間経過観察する全 12 週間の肝癌モデルラットを作成した。DEN 投与開始 1 週間後より SP600125 投与を週 1 回皮下投与 (計 11 回) する群 (DEN+SP 群) と Vehicle のみ投与したコントロール群 (DEN+V 群) にて腫瘍個数、全生存期間を比較検討した。 結果： DEN 投与 1 週間後より正常肝に比べ JNK の活性化指標となる phosphorylated c-Jun (p-c-Jun) 蛋白の発現上昇が見られた。Smad3 にはリン酸化部位が 2 箇所あり、腫瘍抑制に働く C-terminally phosphorylated Smad3 (pSmad3C)、またそれと拮抗することで腫瘍増殖に働く linker-phosphorylated Smad3 (pSmad3L) の存在が知られている。pSmad3L と拮抗して腫瘍抑制に働く pSmad3C の発現は DEN 投与後に低下していくものの DEN+SP 群での低下は抑制され、pSmad3C の下流にある p21 は DEN+SP 群で高発現を示した。同時に DEN+V 群において pSmad3L は 8 週以降発現が上昇し、続いて c-Myc の発現が上昇したが、DEN+SP 群では pSmad3L、 c-Myc のいずれの発現も抑制されていた。細胞増殖の指標とされる PCNA 蛋白発現も DEN+SP 群で低値を示した。肝表面に存在する 3mm 以上の肉眼的全腫瘍個数は DEN+SP 群において有意に低値 (17.7 ± 0.9 vs. 7.9 ± 0.8; <i>P</i> < 0.001)で、また生存期間中央値も DEN+SP 群で延長した (89 vs. 105 days; <i>P</i> < 0.05)。 結論： JNK 阻害剤 (SP600125) 投与により Tβ RI/pSmadC/p21 経路の亢進と JNK/pSmad3L/c-Myc 経路の抑制によりラット肝癌の発育を抑制し、また生存期間延長も得られた。今後 JNK が HCC の発癌,進展における分子標的の 1 つになるとともに、JNK 阻害剤が HCC に対する新たな分子標的治療薬となりうる事が期待される。			

(論文審査の結果の要旨) c-Jun NH₂-terminal kinase (JNK)は、MAP kinaseの1つでストレス刺激や炎症性サイトカインにより活性化され、細胞増殖、アポトーシスなどに関与するとされる。一方、ヒト肝癌においてSmad3のリン酸化が癌抑制から癌促進へシフトすることにより発癌に至る可能性が最近報告された。その癌促進経路へのJNKの関与に着目し、本申請者はJNK阻害剤 (SP600125)を用いて、肝発癌進展の抑制とその抑制機序の解明を目的に本研究を行った。 N-diethylnitrosamine (DEN) 100ppm自然飲水8週間および4週間の経過観察によりラットDEN誘導肝癌モデルを作成した。DEN開始後、JNKの下流に位置するc-Junのリン酸化を認め、そのリン酸化はSP600125皮下投与により抑制された。SP600125の1週毎の皮下投与により腫瘍数減少と生存期間延長を認めた。また、SP600125投与後のリン酸化Smad3の発現については、腫瘍抑制に働くC-terminally phosphorylated Smad3 (pSmad3C)の発現が上昇するとともにその下流に位置するP21の発現も上昇していた。その一方で、腫瘍増殖に働くとされる linker-phosphorylated Smad3 (pSmad3L) の発現およびその下流にある c-Mycの発現も抑制されていた。つまり、SP600125投与により癌抑制に働く pSmadC/p21経路の亢進と癌促進に働く JNK/pSmad3L/c-Myc経路の抑制により腫瘍は抑制され、かつ生存期間の延長も得られたと考えられる。今後JNKがHCCの発癌、進展における分子標的の1つになるとともに、JNK阻害剤 (SP600125)がHCCに対する新たな分子標的治療薬となりうる事が期待される。以上の研究結果は肝癌に対する新たな化学療法剤開発に貢献し、それを用いた新たな肝癌治療に寄与するところが大きい。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、平成21年3月3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。
要旨公開可能日： 年 月 日 以降