

京都大学	博士（ 医 学）	氏 名	阿 世 知 弘 行
論文題目	Resistance to cisplatin-induced apoptosis via PI3K-dependent survivin expression in a rat hepatoma cell line ラット肝癌細胞において、PI3K に依存する survivin の発現がシスプラチン誘導性アポトーシス耐性に関与している		
（論文内容の要旨）			
目的：肝細胞癌は有効な化学療法剤がなく、化学療法抵抗性である。抗アポトーシス蛋白の一つである survivin は、成人の正常細胞において、ほとんど発現が認めらないが、多くの癌腫において過剰発現を示す。肝細胞癌において、survivin の発現が、シスプラチン（CDDP）誘導性アポトーシス耐性に関与するかどうか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発癌進展形式をとるとされる N-diethylnitrosamine（DEN）を用いた化学誘導性発癌モデルを採用した。肝癌細胞株は、DEN を用いた化学誘導性発癌モデルより作成された K-251 を使用した。survivin の発現は、RT-PCR、western blotting、免疫染色により行った。survivin に特異的な siRNA と negative control siRNA を、Lipofection 法により導入し、RT-PCR、western blotting により評価した。CDDP 誘導性アポトーシスの評価は、蛍光免疫染色による核の形態評価により行った。また、アポトーシス関連蛋白の発現を、western blotting により検討した。 結果：DEN によるラット肝癌組織及び、K-251 において、survivin の高発現を確認した。他の癌腫と同様、survivin は、癌部では過剰発現を示すものの、非癌部では発現がほとんど認められなかった。K-251 において survivin 特異的な siRNA の導入により、survivin の発現は、negative control siRNA を導入した細胞と比べて mRNA では $68.1 \pm 8.5\%$、蛋白では $34.5 \pm 7.5\%$ 抑制された。siRNA 導入後 48 時間では細胞増殖は、negative control siRNA を導入した細胞と比べて $62.7 \pm 6.1\%$ 抑制された。K-251 において CDDP は、survivin の発現を誘導した。survivin 特異的 siRNA の導入は、CDDP により過剰発現した survivin を抑制し、CDDP によるアポトーシス細胞の割合を、$8.5 \pm 0.8\%$ から $33.8 \pm 5.9\%$ へと増加させ、細胞増殖を negative control siRNA を導入した細胞と比べて $85.7 \pm 1.8\%$ 抑制した。siRNA を用いての survivin 発現抑制には、cleaved caspase 3, cleaved PARP の発現上昇を伴うものの、phospho-Akt, XIAP の発現には、変化を認めなかった。PI3K の阻害剤である LY294002 を投与すると survivin の発現は抑制された。 結論：PI3K に依存する survivin の発現が CDDP によるアポトーシス耐性に関与している可能性が示唆された。本研究により、肝細胞癌の化学療法耐性の機序の一つとして survivin の誘導が示唆され、survivin を標的とした標的治療が今後期待される。			

（論文審査の結果の要旨） 肝細胞癌の化学療法耐性の機序を明らかにするため、N-diethylnitrosamine（DEN）を用いたラット化学誘導性発癌モデル肝癌組織及び、DEN を用いた化学誘導性発癌モデルより作成された肝癌細胞株 K-251 において、高発現を示した survivin に着目し、siRNA を用いた以下の実験を行った。K-251 において survivin 特異的な siRNA の導入後 48 時間で細胞増殖は、62.7% 抑制された。survivin siRNA により、CDDP により過剰発現した survivin は抑制され、CDDP によるアポトーシスを亢進させ、細胞増殖を 85.7%抑制した。Survivin siRNA により、caspase 3, PARP は活性化された。一方、PI3K の阻害剤である LY294002 により survivin の発現は抑制された。 以上より、PI3K に依存する survivin の発現が CDDP によるアポトーシス耐性に関与している可能性が示唆された。本研究により、肝細胞癌の化学療法耐性の機序の一つとして survivin の誘導が示唆され、survivin を標的とした治療が今後期待される。 以上の研究は化学療法耐性の解明に貢献し survivin を標的とした治療開発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、平成22年 7月30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