

氏 名	ふじもとこうじ 藤 本 康 二
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2099 号
学位授与の日付	平成 11 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	医 学 研 究 科 分 子 医 学 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Induction of cell cycle arrest and apoptosis by a novel retinovenzoic acid derivative, TAC-101, in human pancreatic cancer cells (膵癌細胞における新規合成レチノイド TAC-101 による細胞周期休止とアポトーシス誘導に関する研究)
	(主査)
論 文 調 査 委 員	教 授 鈴 木 康 弘 教 授 西 川 伸 一 教 授 今 村 正 之

論 文 内 容 の 要 旨

レチノイドはビタミンAの誘導体であり、その受容体は核内に存在する。現在までにRARおよびRXRの2つの核内受容体が同定され、さらにそれぞれの受容体に α 、 β 、 γ の3つのサブタイプが存在することが明らかになっている。レチノイドは、核内においてこれらの核内受容体に結合したのち転写制御因子として作用し、細胞の増殖・分化を司るさまざまな遺伝子の発現に関与している。近年、全トランス型レチノイド(all-trans retinoic acid : ATRA)が急性前骨髄性白血病に対して有効であることが示され、さらに、乳癌、肺癌などの固形癌に対しても抗腫瘍効果を有することが報告されつつある。本研究においては、RAR α 受容体に非常に強い親和性を有する新規合成レチノイドTAC-101(4-[3, 5-bis(trimethylsilyl)benzamido]benzoic acid)による4つの膵臓細胞株(BxPC-3, MIA PaCa-2, CFPAC-1, AsPC-1)に対する増殖抑制効果とその分子生物学的機序が検討された。

TAC-101はBxPC-3とMIA PaCa-2細胞に対して時間および濃度依存性に細胞増殖を抑制したが、AsPC-1細胞に対する増殖抑制効果は認められなかった。また、TA-101はBxPC-3とMIA PaCa-2細胞においてATRAよりも強い増殖抑制効果を示した。

フローサイトメトリーによる細胞周期解析では、TAC-101処理はBxPC-3細胞の細胞周期をG1期(休止期)に誘導したが、AsPC-1細胞においてはG1期への誘導は認められなかった。このBxPC-3細胞におけるG1期への誘導は、RB蛋白のリン酸化の抑制とサイクリン依存性キナーゼ(cyclin-dependent kinase : CDK)インヒビターであるp21^{WAF1/Cip1}(p21)とp27^{Kip1}(p27)のRNAおよび蛋白レベルでの発現増強を伴うことがRT-PCR法およびウエスタン・ブロット法にて確認された。さらに、転写因子であるE2Fによって制御されるサイクリンAとチミジル酸合成酵素(thymidylate synthase)の発現減弱も伴った。他の細胞周期関連因子であるサイクリンD1、サイクリンEおよびCDK2の発現に変化は認められなかった。

次に、TAC-101によるBxPC-3細胞における増殖抑制効果が、G1期への誘導による細胞周期制御とともに、細胞死(アポトーシス)の誘導によるものか否かを検討した。その結果、ゲル電気泳動とフローサイトメトリーにて、それぞれ180~200bpのラダーパターンとsub-G1期細胞の増加を認めた。さらに、ヘキスト染色にて形態学的に核の断片化を確認した。

RAR α 受容体の膵癌細胞株における発現をRT-PCR法およびウエスタン・ブロット法にて検討したところ、その発現はBxPC-3 > MIA PaCa-2 > CFPAC-1 > AsPC-1の順に強く、これは上述したTAC-101による細胞増殖抑制効果とよく関連した。

結論として、新規合成レチノイドTAC-101は、RAR α 受容体に非常に強い親和性を有し、(1)CDKインヒビターであるp21およびp27の発現増強を介したRB蛋白リン酸化の抑制によるG1期休止を誘導すること、(2)非常に強いアポトーシス誘導能を有すること、の2つの機序により、膵癌細胞に対し強力な増殖抑制効果をもたらすことを明らかにした。本剤は、膵癌

治療における有効な治療薬になりうる可能性があると考えられる。

論文審査の結果の要旨

本研究においては、RAR α 受容体に強い親和性を有する新規合成レチノイドTAC-101の膵癌細胞に対する増殖抑制効果とその分子生物学的機序を検討した。

TAC-101はBxPC-3とMIAPaCa-2細胞に対して時間および濃度依存性に細胞増殖を抑制し、TAC-101処理はBxPC-3細胞の細胞周期をG₁期に誘導した。このG₁期への誘導はRB蛋白のリン酸化の抑制とp21^{WAF1/Cip1}とp27^{Kip1}の発現増強を伴うことが確認された。さらに、TAC-101によるBxPC-3細胞における増殖抑制効果がアポトーシス誘導によるものであることも証明された。また、RAR α 受容体の発現が強い膵癌細胞株においてTAC-101による増殖抑制効果が顕著であった。

結論として、RAR α 受容体に強い親和性を有するTAC-101は、細胞周期におけるG₁期とアポトーシス誘導により、膵癌細胞に対し強力な増殖抑制効果をもたらすことが明らかにされ、膵癌治療における有効な治療薬になりうる可能性が示唆された。

以上の研究は、レチノイドによる膵癌細胞増殖抑制機序の解明に貢献し、消化器癌のなかでも悪性度の高い膵癌の治療の発展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11年2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。