

論文内容要旨

論文題目

Inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase increases efficacy of cisplatin in *in vivo* ovarian cancer models

(卵巣癌モデルにおいてホスファチジルイノシトール 3 キナーゼ阻害がシスプラチンの効果を増強させる)

責任講座：発達生体防御学講座女性医学分野

氏 名： 太田 剛

【内容要旨】

【目的】

卵巣癌は根治的腫瘍減量術と補助化学療法が基本治療として確立しているが、生存率が最も低い婦人科癌である。その理由として、早期発見が困難なこと、また当初抗癌剤に感受性を示していても耐性化を示し再発する場合が多いことが考えられる。抗癌剤耐性化の機序の一つとしてシスプラチン(CDDP)が生存シグナルである phosphatidylinositol 3-kinase (PI3-K)/Akt 経路を活性化し、anti-apoptotic に働くことが重要とされ、*in vitro* では PI3-K 阻害剤を CDDP と併用することで、CDDP の抗腫瘍効果が増強されることが確認されている。しかし、*in vivo* において PI3-K 阻害剤が CDDP の抗腫瘍効果を増強するか否かは知られていない。今回、我々はヌードマウス移植系卵巣癌モデルを作成し、PI3-K 阻害剤と CDDP との併用効果を検討した。

【方法】

5～6 週齢のメスヌードマウスに Caov-3 細胞 (CDDP 耐性ヒト卵巣癌細胞株) 10^6 個を腹腔内投与し、2 週間して腫瘍形成後に、①vehicle (PBS)、②CDDP (5 mg/kg、週 1 回投与)、③wortmannin (2 mg/kg、週 3 回投与)、④CDDP+wortmannin の 4 群で以下の項目を観察した。(1)腹囲、腹水産生量及び腫瘍形成量を測定した。摘出した腫瘍組織を用いて、(2)phosphor(P)-Akt の発現を western blotting と免疫組織染色を用いて、(3)apoptosis を TUNEL 法で、PI3K/Akt 経路の下流のシグナルである(4)P-IkB, P-BAD (bcl-2 associated death protein)の発現を免疫組織染色により検討した。また、(5)Caov-3 に empty vector または dominant-negative Akt (K179M-Akt)を導入した細胞をマウス腹腔内に投与し、この 2 群で CDDP の効果を腹水産生量により検討した。

【結果】

(1)腹囲、腹水及び腫瘍形成量は併用群で著しく抑制された。(2)CDDP により増強された Akt のリン酸化は wortmannin の併用により抑制された。(3)Wortmannin を併用すると、CDDP により誘導される apoptosis が増強した。(4)IkB, BAD においても、CDDP により増強されたリン酸化が wortmannin により抑制された。(5) K179M-Akt を導入群では empty vector 導入群と比べて CDDP により腹水産生が抑制された。

【結論】

PI3-K 阻害剤(wortmannin)は PI3K/Akt 経路の活性化を抑制し、CDDP の抗腫瘍効果を増強することを *in vivo* で初めて明らかとした。CDDP に耐性を示す卵巣癌に対して PI3-K 阻害剤は有効な分子標的治療となる可能性が示唆される。

平成20年 / 月22日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名:

太田 剛

論文題目: Inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase increases efficacy of cisplatin in *in vivo* ovarian cancer models

(卵巣癌モデルにおいてホスファチジルイノシトール3キナーゼ阻害がシスプラチンの効果を増強させる)

審査委員: 主審査委員

吉岡 厚志

副審査委員

根本 達二

副審査委員

比中 千史

審査終了日: 平成20年 / 月18日

【 論文審査結果要旨 】

学位審査提出者の属するグループは、既にシスプラチン耐性卵巣がん細胞 Caov-3 を用いて、PI3K/AKT 経路において、AKT の不活化がシスプラチンへの感受性の回復に寄与すること、PI3K/AKT 経路の下流にある BAD や Forkhead と NF κ B の転写因子の不活性化もシスプラチンの感受性回復に寄与することを、*in vitro* で証明している。そこで学位審査提出者は、PI3K の阻害剤である wortmannin が、シスプラチン耐性卵巣腫瘍へシスプラチンの効果増強を起こす分子標的治療薬になりうる可能性があると仮説を立て、Caov-3 をヌードマウスの腹腔内に移植したモデルマウスを使って *in vivo* で検討した。

まず、シスプラチン耐性卵巣腫瘍 Caov-3 移植ヌードマウスに対する wortmannin の至適投与量と毒性を検討し、wortmannin 2mg/Kg が至適投与量と決定した後、コントロール・シスプラチン投与群・wortmannin 単独投与群・シスプラチン/wortmannin 併用群を作成し、腫瘍の増殖抑制実験を行い、Caov-3 細胞がシスプラチンに感受性が低いこと、wortmannin 投与もしくは併用で腫瘍増殖が抑制されることを示し、シスプラチン耐性卵巣腫瘍へのシスプラチンへの感受性増強に wortmannin が有用であることを示した。また、そのメカニズムを検討するため、免疫染色法や Western blot 法を用いて、シスプラチン耐性卵巣腫瘍においてシスプラチン投与で AKT の活性化が起きており、wortmannin 投与で AKT の不活化が単独投与でもシスプラチン併用投与でも起き、また PI3K/AKT 経路の下流のシグナルの BAD や NF κ B に同様のことが起きていることを明らかにした。すなわち、wortmannin が PI3K/AKT 経路とその下流の転写因子の不活性化を介して、シスプラチン耐性卵巣腫瘍細胞のシスプラチン耐性からの回復に寄与する分子標的薬となりうることを、*in vivo* 実験系で初めて明らかにした。

研究は、順序だてて適確に進められており、データの検証・解釈も良くされていて、学位審査に当たって内容に大きな問題はないと判断された。

但し以下の点が指摘された。

- 1) シスプラチン耐性化の機序を扱ったかのような表現があるがシスプラチン耐性機序を扱っているので表現に注意するように。
- 2) Sensitive に対応する語が resistance になっているが resistant とするべき。
- 3) Inactive と言う表現を dominant negative へ、survive を survival に統一すること。

以上を訂正すれば、本審査に臨む事に問題ないと考えられた。

(1, 200字以内)