

# 論文内容要旨

論文題目

スルファサラジンは子宮体部漿液性癌抗癌薬耐性株に対してフェロトーシス性細胞死を誘導する

責任講座： 産科婦人科学 講座  
氏 名： 杉山 晶子

【内容要旨】(1,200 字以内)

【背景】

子宮体部漿液性癌(USC)は早期症例でも再発率が高く、再発時は化学療法抵抗性となるため予後不良である。我々は USC の薬剤耐性機序として細胞内の代謝経路に着目し、パクリタキセル感受性と耐性 USC 細胞株においてメタボローム解析を行ったところ、耐性株において細胞内グルタチオン(GSH)濃度が増加していることを見出し、USC では GSH の代謝機構が化学療法抵抗性に関与しているのではないかと考えた。スルファサラジン(SAS)はシスチントランスポーター(xCT)を阻害することで GSH を減少させ、多種類の癌細胞において抗腫瘍効果を示すことが明らかとなっている。また、SAS は非アポトーシス性の細胞死であるフェロトーシスを引き起こすことが報告されている。しかし子宮体癌における SAS の抗腫瘍効果については、未だ明らかになっていない。そこで本研究では、USC における SAS の抗腫瘍効果と SAS により生じる癌細胞の細胞死のメカニズムについて検討を行った。

【方法】

USC 細胞株でパクリタキセル感受性株 USPC1 と、パクリタキセル耐性株 PTX1 を用いた。SAS による細胞増殖抑制効果およびパクリタキセルと SAS 併用投与によるパクリタキセル感受性の変化を MTS assay 法で、GSH 濃度と ROS 産生量の変化を GSH-Glo™ Glutathione Assay 法とフローサイトメトリー法で検討した。SAS 投与による死細胞の誘導を PI 染色による cell death assay 法で、アポトーシスを抗 cleaved PARP 抗体による western blotting 法で検討した。PTX1 において、SAS とフェロトーシス阻害薬、鉄キレーター、アポトーシス阻害薬それぞれの併用投与による cell viability の変化を MTS assay 法で検討した。USPC1 と PTX1 における RAS エフェクター(AKT, Erk, JNK)の発現を western blotting 法で検討した。

【結果】

USPC1、PTX1 のいずれにおいても SAS は細胞増殖抑制効果を示したが、PTX1 においてより強い効果を示した。両細胞株で SSZ 併用投与によりパクリタキセルの感受性が増強した。SAS 400μM 投与によって両細胞株で GSH 濃度が減少した。SAS 200μM 投与による ROS 産生上昇と細胞死誘導は、PTX1 では認めたが、USPC1 では認めなかった。PTX1 では SAS 投与によるアポトーシス誘導を認めなかった。PTX1 において SAS とフェロトーシス阻害薬および鉄キレーターとの併用投与によって SAS の細胞増殖抑制効果が解除されたが、SAS とアポトーシス阻害薬の併用投与では解除されなかった。RAS エフェクターの下流分子である phospho-AKT, phospho-Erk の発現は両細胞株で有意差を認めなかったが、phospho-JNK の発現は PTX1 において亢進していた。

【結論】

USC 細胞株において xCT 阻害薬である SAS がパクリタキセルに対する感受性を増強させることを明らかにした。SAS はパクリタキセル感受性株と比較して耐性株でより抗腫瘍効果が高く、耐性株では ROS の蓄積と Ras エフェクターである JNK 活性による合成致死がフェロトーシス性の細胞死を誘導することを見出した。これらの知見から xCT 阻害剤は化学療法抵抗性となった再発子宮体部漿液性癌に対する新規治療薬となり得ることが示唆された。

平成 30 年 1 月 4 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：杉山 晶子

論文題目：スルファサラジンが子宮体部漿液性癌抗癌薬耐性株に対してフェロトーシス性細胞死を誘導する

審査委員：主審査委員 上野 義之



副審査委員 藤井 順逸



副審査委員 園田 順彦



審査終了日：平成 30 年 1 月 4 日

### 【 論文審査結果要旨 】

申請者は、子宮体部漿液性癌の細胞株を用いて、抗癌薬に対する耐性を獲得し細胞死を免れる機序として xCT というトランスポーターを介した細胞内酸化ストレス系の抗酸化システムに着目した。さらに xCT を阻害するスルファサラジンに着目し、同薬の使用により細胞死が認められること、そしてその細胞死のメカニズムとしてフェロトーシスが関与していることを主に in vitro の系を使って明らかにした。

詳細に細胞死の機構について阻害薬や適切なコントロールを用いて検討しており、特にパクリタキセル耐性の癌に対して新たな治療法を提唱できる一つの基盤となる研究であり、学位に値すると審査会では結論された。

ただし委員から下記の点について、適切に対応されるように意見が附された。

1. 使用した細胞について、その由来、性格、など背景となる情報を適切な参照文献と共に明らかにすること。
2. 同様に用いた抗体などについても、適切な参照文献を用いて方法に記すこと。
3. フェロトーシスの阻害についてスルファサラジンを用いているが、その理論的根拠、そしてその他の阻害薬について考察すること。
4. サルファサラジンを用いたときの細胞内の還元系のデータについて、実施した実験について結果のところで触れること（同様に方法のところに記載すること）。
5. ウェスタンブロッティングにおいて、できれば分子量マーカーを提示すること、そしてもし可能であれば定量化したデータも附すこと。
6. スルファサラジンが 200 $\mu$ M で急速に障害性を示しているの、そのことについても考察で言及して討論しておくこと。
7. 細胞死と viability という言葉について、用いる内容を吟味して適切に使用すること。

以上について、適切な対応をとれば最終試験に対し準備を進めることが適当と判断と判断された。

(1, 200字以内)