

# 論文内容要旨

論文題目

## Clarithromycin Suppresses Invasiveness of Human Lung Adenocarcinoma Cells

(クラリスロマイシンは肺腺癌の浸潤能を抑制する)

責任講座：内科学第一 講座

氏名：和田 敏弘

### 【内容要旨】

【背景と目的】14員環マクロライド系抗生剤である clarithromycin (CAM) は、抗菌作用や抗炎症作用の他、抗腫瘍効果もあることが示唆されている。実際、切除不能非小細胞肺癌患者に CAM を長期投与することで、生存期間中央値の延長につながったとする報告もある。しかし、肺癌に対する CAM の抗腫瘍効果については、そのメカニズムも含め未だ不明な点が多い。今回我々は、肺腺癌細胞に対する CAM の抗腫瘍効果について検討した。

【対象と方法】ヒト肺腺癌細胞の A549 細胞を CAM (0, 1, 10, 30  $\mu\text{g/ml}$ ) を含む培地で3日間培養し、細胞増殖能、浸潤能に及ぼす CAM の効果について検討した。また、接着因子であり癌の転移・浸潤に深く関わる E-cadherin や integrins の発現、肺腺癌の浸潤能との関連が示唆されている thymidine phosphorylase (TP) に対する CAM の効果についても検討した。細胞増殖能は alamarBlue assay で、浸潤能は Matrigel invasion assay を用いて評価した。また、E-cadherin と TP の発現は Western blot で、integrins の発現は flow cytometry analysis で検討した。さらに、TP と integrins の関連性を検討するため、TP の特異的な inhibitor である 5-chloro-6-{1-(2-iminopyrrolidinyl) methyl} uracil hydrochloride (0, 2.7  $\mu\text{g/ml}$ ) を投与し、integrins の発現の変化についても検討した。

【結果】細胞増殖能について control 群と CAM 30  $\mu\text{g/ml}$  投与群とで比較したが、CAM は細胞増殖能に影響を及ぼさなかった。Matrigel invasion assay を用いた浸潤能の検討では、CAM は A549 細胞の浸潤を濃度依存性に抑制し、CAM 30  $\mu\text{g/ml}$  にて有意差を認めた。次に、CAM の浸潤能抑制のメカニズムを解明するため、癌の転移・浸潤に重要な役割がある、接着因子の E-cadherin と integrins の発現に対する CAM の効果を検討した。CAM は E-cadherin の発現に影響を及ぼさなかったが、integrin  $\alpha 2$  と integrin  $\beta 1$  の発現を有意に抑制した。さらに、肺癌において、血管新生よりむしろ転移・浸潤能との関連性が示唆されている血管新生因子の TP の発現について検討したところ、CAM は TP を濃度依存性に抑制した。また、TPI 投与により、integrin  $\beta 1$  の発現が抑制された。

【結論】CAM は、TP、integrin  $\alpha 2$ 、integrin  $\beta 1$  の発現抑制などにより肺腺癌の転移・浸潤能を抑える可能性があると考えられた。さらに、integrin  $\beta 1$  は、TP のシグナルの下流に位置する可能性が示唆された。


平成17年 / 月 / 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：和田敏弘

論文題目：Clarithromycin Suppresses Invasiveness of Human Lung Adenocarcinoma Cells

審査委員：主審査委員 本山 悌一 

副審査委員 仲川 義人 

副審査委員 河田 純男 

審査終了日：平成17年 / 月 6 日

### 【 論文審査結果要旨 】

抗菌性抗生物質として開発されたマクロライド系抗生物質のクラリスロマイシン (Clarithromycin ; CAM) は、広い抗菌スペクトルと強い抗菌力を有し、血中濃度の持続性や組織移行性にも優れていることが知られている。この CAM を切除不能非小細胞肺癌患者の随伴肺炎に対して用いたところ、抗腫瘍効果もあることをうかがわせる臨床成績が近年幾つか出てくるようになった。和田君は、このことに着目して、CAM が果たして腫瘍細胞に対して直接的な効果を持つか否か、持つとすればどのような点であることを明らかにすることを研究の目的とした。

自ら呼吸器内科に興味を持つことから、非小細胞癌肺癌の代表である腺癌に由来する培養細胞株 A549 を研究材料とし、in vitro での実験系を組み立てた。その結果、CAM は A549 細胞の増殖能には影響を与えないが、浸潤能を抑制することを明らかにした。さらに、浸潤能の抑制は Thymidine phosphorylase、integrin  $\alpha 2$ 、integrin  $\beta 1$  の発現抑制を介してのものであろうこと、integrin  $\beta 1$  は Thymidine phosphorylase のシグナルの下流域に位置するであろうことを示した。

以上は CAM が腫瘍細胞の浸潤能を直接的に抑制することとその機序の一端を初めて明らかにした研究であり、審査委員会は学位 (医学博士) 論文に値するものと評価した。