

# 論文内容要旨

論文題目

卵巣明細胞癌におけるグルタチオン合成経路阻害による細胞死誘導機構に関する研究

責任講座： 産科婦人科学 講座

氏 名： 出井 麗

## 【内容要旨】(1,200字以内)

【背景】がん細胞の薬剤抵抗性機序として抗癌剤が誘導する活性酸素種(ROS)を抗酸化物質であるグルタチオン(GSH)が抑制してアポトーシスを阻害する機序がある。スルファサラジン(SAS)はグルタミン酸-シスチントランスポーター(xCT)の阻害作用を持ち、GSH産生を低下させ、アポトーシスを誘導させる。また細胞内GSHが低下すると、非アポトーシス性で鉄依存性の細胞死であるフェロトーシスが誘導される。本研究では、臨床的に薬剤耐性が課題となる卵巣明細胞癌においてSASがxCTを阻害しGSH合成経路を抑制することで抗癌剤の効果を増強して薬剤抵抗性を克服できるか、またその細胞死誘導機序について検討した。

【方法】ヒト卵巣明細胞癌細胞株(TOV21G, RMG-1, HAC-2, ES-2)にSASを投与し、細胞内GSHおよびROSの変化を検討した。シスプラチン(CDDP)またはpaclitaxel(PTX)とSASを併用投与して細胞増殖能への影響、ROS産生の変化と誘導される細胞死について検討した。GSH代謝経路関連蛋白質の発現と細胞内鉄イオン濃度を評価した。SASとPTX併用投与による抗腫瘍効果を異種移植モデルで検討した。

【結果】すべての明細胞癌細胞株で細胞内GSHが低下したが、ROSの上昇はHAC-2でのみ認めなかった。SASとCDDP併用投与ではES-2でのみ細胞増殖能抑制効果を認め、SASとPTX併用投与ではHAC-2を除いたすべての細胞株で細胞増殖能抑制効果とROS産生の増加が認め、TOV21GとRMG-1ではアポトーシスが、ES-2ではフェロトーシスが誘導された。HAC-2ではxCTを介さずGSHを産生するtrans-sulfuration経路の律速酵素であるシスタチオニンガンマリナーゼ(CGL)の発現が上昇しており、ES-2とCaov-3(卵巣粘液性癌細胞株)ではフェロトーシス誘導を制御するグルタチオンペルオキシダーゼ(GPx4)の発現が低下していた。Caov-3はES-2に比較して細胞内鉄イオン濃度が低下していたためSASとPTX併用投与でフェロトーシスの誘導を認めなかったが、鉄の添加でSASとPTX併用投与によるフェロトーシスの誘導を認めた。RMG-1を用いた異種移植モデルでSASとPTX併用投与は、それぞれの単剤投与に比較して抗腫瘍効果を増強した。

【結論】卵巣明細胞癌においてSASはPTXの抗腫瘍効果を増強させる。SASとPTX併用投与でROS産生の増加により誘導される細胞死の主たる機序はアポトーシスであるが、GPx4発現が低下し、細胞内鉄イオン濃度が高いとフェロトーシスが誘導される。また、CGLが高発現であるとSASとPTX併用投与による抗腫瘍効果の増強が認められない。卵巣明細胞癌においてSASは薬剤抵抗性を克服する新規治療法となる可能性が示唆された。

(1198文字)

令和4年1月6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：出井 麗

論文題目：卵巣明細胞癌におけるグルタチオン合成経路阻害による細胞死誘導機構に関する研究

審査委員：主審査委員 浅尾 裕信

副審査委員 鈴木 民夫

副審査委員 高木 理彰



審査終了日：令和4年1月5日

### 【 論文審査結果要旨 】

卵巣がんは婦人科癌の中でも化学療法に抵抗性であり予後が悪く、新たな治療法の開発が求められている。グルタチオン (GSH) は抗がん薬が誘導する ROS を抑え、抗がん薬の作用を阻害することが知られている。申請者は、抗リウマチ薬として開発されたスルファサラジン (SAS) がグルタミン酸-シスチントランスポーター (xCT) の抑制効果を介して GSH を低下させることにより、抗がん薬の卵巣明細胞癌抑制効果を増強することができるのではないかと考え、*in vitro* および *in vivo* で解析し、以下の結果を得た。

- 1) SAS は4種類の明細胞癌由来細胞株に対して GSH を低下させたが、ROS 産生増加を認めたのは、そのうち3種類であった。
- 2) SAS と paclitaxel (PTX) を組み合わせることにより、ROS 産生増加を認めた3種の細胞株で細胞死が誘導された。
- 3) 細胞死の原因としては、細胞毎にアポトーシスかフェロトーシスが起ることが確認された。細胞死が起らなかった細胞では、xCT を介さずに GSH を産生する trans-sulfuration 経路が活性化されていることが原因である可能性を示した。
- 4) SAS と PTX により *in vitro* の系で細胞死を認めた明細胞癌細胞株をヌードマウスの皮下に移植し、SAS と PTX を投与したところ、SAS、PTX 単独投与に比べて有意に腫瘍の増殖を抑制した。これらの結果から、SAS と PTX の組み合わせは、GSH による薬剤抵抗性を解除するという新たな卵巣明細胞癌治療法として期待できることを示した。

審査会では、GSH の絶対量を示すこと、*in vivo* 実験でのデータの追加などが指摘された。また、同じ明細胞癌由来の細胞株でもその SAS と PTX に対する反応がそれぞれ異なる。その原因として GSH の合成、代謝経路の違いが示唆され、今後摘出癌組織での検討をするなど、明らかにすべき点は残されている。しかし、本研究は卵巣がんの治療抵抗性を示す機序やそのマーカーの候補を見出すなど、治療をすすめて行くうえで重要な研究であると考えられた。審査会での質疑応答も概ね的確であり、本学位論文審査委員会は本研究論文を博士 (医学) の授与に値すると判定した。

(1, 200字以内)