

論文内容要旨

論文題目

Different effects of Anticancer drugs, Daunorubicin and Docetaxel, on iNOS Induction in Alveolar Macrophages

肺胞マクロファージでの iNOS 発現への
抗腫瘍薬ダウノルビシンおよびドセタキセルの異なった作用

責任講座： 耳鼻咽喉科学 講座
氏 名： 齊藤 史明

【内容要旨】

【目的】 Daunorubicin (DNR) は白血病などの造血器腫瘍の治療に頻用されており、また、近年 Docetaxel (DTX) は乳癌、胃癌などの固形癌の治療に用いられている。骨髄抑制は抗腫瘍薬の主な副作用の一つであり、抗腫瘍薬投与時の免疫能低下は骨髄抑制に伴う白血球数の低下によると考えられている。一方、免疫担当細胞であるマクロファージは NO 合成酵素 (iNOS) の誘導により、NO を産生し、抗病原性を発揮する。今回、ラット肺胞マクロファージにおいて、抗腫瘍薬投与による NO 産生、および iNOS 発現の変化について、in vitro および ex vivo の実験により検討した。【方法】 DNR (4 mg/kg/day)、DTX (2 mg/kg/day) を、それぞれ Wistar 系雄性ラット (7 週齢) に 5 日連日投与し、2 日間休薬後肺胞マクロファージを採取した。各々 LPS (1 μ g/ml) にて刺激を行った。また、別に肺胞マクロファージを採取し in vitro で DNR (0.1, 0.5, 1 μ M) および DTX (1.16, 5.8, 11.6 μ M) を投与し同様に LPS にて刺激した。NO 産生は Griess 法を用いて測定し、iNOS、ERK の蛋白発現は Western blotting 法を用いて検討した。【結果】 DNR 投与ラットでは、コントロールラットと比較して有意な NO 産生および iNOS 発現の低下を認めた。また、iNOS 発現低下の原因として p-ERK 発現の低下が考えられた。また、in vitro では低濃度 DNR では NO 産生に影響は見られなかったが、高濃度 (1 μ M) では NO 産生の低下が認められた。逆に DTX 投与ラットでは NO 産生および iNOS 発現の亢進を認めたが p-ERK 発現量には変化は見られなかった。一方 DTX 投与群では p-p38 発現の有意な亢進を認めた。In vitro の実験では NO 産生は低濃度 (1.16 μ M, 5.8 μ M) では有意な変化は認めず、高濃度 (11.6 μ M) で低下を認めた。【結論】 DNR 投与ラットにおいて in vitro での NO 産生、iNOS 発現の低下には p-ERK 抑制の関与が考えられた。一方 in vitro では高濃度の DNR においては NO 産生、iNOS 発現の低下を認めたが、これは DNR による非特異的な影響が原因と考えられた。一方 DTX 投与ラットにおいては逆に NO 産生、iNOS 発現ともに増加していた。抗腫瘍薬の投与時には白血球数の減少が免疫能低下の原因として重要であるが、それに加えてマクロファージ機能の抑制も、更なる免疫低下に関与する可能性が示唆された。また逆に DTX は NO 産生、iNOS 発現を増加させ、免疫能を亢進させる可能性が考えられた。

学位論文審査結果報告書

申請者氏名：齋藤 史明

論文題目：Different effects of Anticancer drugs, Daunorubicin and Docetaxel, on iNOS Induction in Alveolar Macrophages

〔肺胞マクロファージでの iNOS 発現への
抗腫瘍薬ダウノルビシンおよびドセタキセルの異なった作用〕

審査委員：主審査委員 仲川 義人 (印)

副審査委員 大谷 浩一 (印)

副審査委員 北中 千史 (印)

審査終了日：平成 18 年 1 月 5 日

【 論文審査結果要旨 】

抗腫瘍薬には①アルキル化剤、②代謝拮抗剤、③抗生物質、④植物由来の製剤、⑤白金剤、⑥分子標的剤など、10種以上にも分類されている薬剤が広く併用療法されている。一方で骨髄抑制などの重篤な副作用も多い。そこで、今回、齋藤史明君は、抗腫瘍薬の副作用である免疫能低下作用に注目し、③の抗生物質である daunorubicin (DNR, daunomycin) と④のタキサン系薬剤である docetaxel hydrate (TXT) を用い、肺胞マクロファージにおける一酸化窒素 (Nitric oxide: NO) の合成酵素 (iNOS) に及ぼす影響の違いについて ex vivo と in vitro で検討した。実験は、① Wistar 系雌性ラットに DNR 4mg/kg/day, TXT 2mg/kg/day をそれぞれ 5 日間腹腔内に投与し、2 日間休薬後、肺胞マクロファージを採取し、LPS (1.0 μ g/mL) 刺激による NO 産生能に対する ex vivo での実験、および②抗腫瘍薬未投与のラットの気管支洗浄により分離・培養した肺胞マクロファージを用い、DNR と TXT の作用の違いを in vitro で検討した。その結果：LPS の 24 時間インキュベート (刺激) による iNOS 蛋白発現と NO 産生は DNR 投与群において有意に抑制された ($P < 0.01$)。また LPS 刺激によるマクロファージでの NO 産生に重要で MAPKs の活性化に必要な ERK のリン酸化が有意に抑制された。一方、in vitro での LPS による iNOS, NO 産生は DNR の高濃度 (1 μ M) でのみ抑制された。TXT の ex vivo の実験では iNOS 発現と NO 産生の有意な上昇を示した ($P < 0.05$) が ERK のリン酸化の発現量は変化を呈さず p38 活性を有意に増強した。In vitro では 11.6 μ M の高濃度で NO 産生の低下を呈した。しかし、DNR と異なり TXT は乳酸産生増加は惹起しなかった。

以上により、DNR の投与による NO 産生低下作用にはリン酸化 ERK の抑制、および細胞障害の可能性が考えられた。一方、TXT では DNR と異なり NO 産生抑制は認められず、逆にマクロファージを介する免疫能助長作用といった明かな効果の違いを立証した。同君の研究は DNR の副作用である免疫能抑制機序にマクロファージのシグナル伝達因子への間接効果の関与を示した興味ある研究である。そこで、審査委員会では本研究は博士 (医学) の学位を受けるに値するものと判定した。