

## 学位論文の内容の要旨

専攻	機能構築医学	部門	医用工学
学籍番号	11D708	氏名	森 正樹
論文題目	Hsp90 inhibitor induces autophagy and apoptosis in osteosarcoma cells		
<p>(論文要旨)</p> <p>【緒言】</p> <p>Heat shock protein 90 (以下Hsp90) は細胞増殖、生存に関与する多種多様な領域のクライアント蛋白の安定化・機能を調節するATP依存性分子シャペロンであり、細胞内の総タンパク質の1-2%を占めている。腫瘍細胞ではHsp90の発現量は2-10倍に増えており、腫瘍細胞の増殖や生存に重要なものであることが示唆されている。様々な腫瘍細胞においてHsp90活性を阻害するとHsp90クライアント蛋白が急速に分解され、2つの経路を介してアポトーシスが誘導される。またHsp90はオートファジーにおける重要な役割を担っており、Hsp90阻害薬はmTORの抑制を介してオートファジーを誘導する。しかしながら腫瘍細胞において化学療法で誘導されるオートファジーが防御反応として発現しているのか、細胞死を促進するために誘導されるのかに関しては一定の見解は得られていない。本研究ではヒト骨肉腫細胞株におけるHsp90阻害薬およびオートファジー阻害薬との併用による抗腫瘍効果を検討した。</p> <p>【方法】</p> <p>ヒト骨肉腫細胞株としてKTHOS細胞を使用した。Hsp90阻害薬としてGeldanamycin (以下GA) を、オートファジー阻害薬として3-methyladenine (以下3-MA) を使用した。GAおよび3-MAによる抗腫瘍効果はCell Proliferation Assay (MTS assay) により評価した。Western blot法では、Akt/mTOR経路の各因子の蛋白発現およびGAによる経路のリン酸化抑制を評価し、更にLC-3抗体およびp62/SQSTM1抗体を用いてオートファジーを、またcaspase-9抗体、caspase-8抗体およびPARP抗体を用いてアポトーシスをそれぞれ評価した。またTUNEL法を用いたフローサイトメトリーにてアポトーシスを意味する断片化DNAの検出を行い測定した。また、培養細胞をMDCおよびAnnexin-Vにより染色を行い、それぞれオートファジー細胞およびアポトーシス細胞を形態学的に評価した。</p> <p>【結果】</p> <p>MTS assayではGAにより時間・用量依存性にKTHOS細胞の増殖抑制効果を認めた。また、GAに3-MAを併用することでこの抗腫瘍効果の増強が確認された。Western blot法では、GAの投与により用量依存性にAkt/mTOR経路のリン酸化抑制と、オートファジーを示すLC-3 IIの発現増加およびp62/SQSTM1の発現低下を認めた。また、GAの投与によりアポトーシスを示すcleaved caspase-9、cleaved caspase-8、cleaved PARPの発現を認めた。また、GAおよび3-MAの併用によりcleaved PARPの発現の増強を認めた。フローサイトメトリーでは、GAおよび3-MAの投与により、アポトーシスを示す断片化DNAの増加を認めた。形態学的評価では、GAによりオートファジー細胞が増加し、GAおよび3-MAの併用によりアポトーシス細胞の増加が確認された。</p> <p>【考察】</p> <p>本研究ではKTHOS細胞においてGAはアポトーシスおよびオートファジーを同時に誘導することが確認された。オートファジーはAkt/mTOR経路の抑制を介して腫瘍細胞の防御機構として誘導され、オートファジーを抑制することで強い抗腫瘍効果を発揮することが確認された。これらの結果から考察すると、骨肉腫においてHsp90阻害薬とオートファジー阻害薬の併用によりアポトーシスが誘導され有効な化学療法となり得る可能性が示唆された。</p>			

掲 載 誌 名	International Journal of Oncology			第46巻, 第1号
(公表予定) 掲 載 年 月	2014年10月	出版社(等)名	Spandidos Publications	
Peer Review	有		無	

(備考) 論文要旨は, 日本語で1, 500字以内にまとめてください。