

学位論文の内容の要旨

専攻	分子情報制御医学専攻	部門	病態制御医学部門
学籍番号	12D747	氏名	横倉繁行
論文題目	Calmodulin antagonists induce cell cycle arrest and apoptosis in vitro and inhibit tumor growth in vivo in human multiple myeloma		
(論文要旨)			
<p>【研究の背景と目的】 多発性骨髄腫 (multiple myeloma: MM) は、アルキル化剤やステロイド、プロテアソーム阻害剤、免疫調整薬など様々な治療法が存在するが、いずれの治療法をもってしても生存曲線がプラトーとはならず、完治が望めない疾患である。それゆえ、新規作用機序の薬剤が望まれている。 カルモジュリンは生体のあらゆる細胞にユビキタスに存在し、細胞内カルシウムをセカンドメッセンジャーとする細胞内シグナル伝達を担い、炎症、代謝、記憶、筋肉収縮などに関与する他、細胞周期の促進やアポトーシスの制御にも関わっている。カルモジュリンは各種悪性腫瘍において発現が高まっていることが報告されており、カルモジュリン阻害剤は悪性黒色腫や肺癌、乳癌、胆管細胞癌などの細胞株に対して抗腫瘍効果を示すことが報告されている。 本研究は、MM 細胞株に対するカルモジュリン阻害剤 W-7、W-13 の in vitro および in vivo における抗腫瘍効果とそのメカニズムを調べることを目的とする。</p> <p>【方法】 1. MM 細胞株である RPMI8226、U266、MM1.S、MM1.R、NCI-H929、KMS-12-BM、KMS-5 に対して種々の濃度の W-7、W-13 および W-7 のネガティブコントロールである W-5 を添加し、WST-8 法により腫瘍細胞の増殖抑制効果を検討した。 2. RPMI8226、U266、MM1.S 細胞に対して W-5、W-7、W-13 を添加し、細胞周期の変化についてフローサイトメトリーで解析した。また、細胞周期関連蛋白質の変化について western blot 法で解析した。 3. RPMI8226、U266、MM1.S 細胞に対して W-5、W-7、W-13 を添加し、アポトーシス誘導について PI と Annexin-V の二重染色とフローサイトメトリーで解析を行った。また、caspase 関連蛋白質の変化、ERK1/2、STAT3 のリン酸化の変化について western blot 法で解析した。 4. RPMI8226、U266、MM1.S 細胞に対して W-5、W-7、W-13 を添加し、細胞内カルシウム濃度の変化を Fluo-4/AM 染色とフローサイトメトリーで解析した。また、ミトコンドリア膜電位の変化を JC-10 染色と蛍光顕微鏡で解析した。 5. RPMI8226 細胞を BALB/c nu マウスの皮下に移植し、腫瘍の生着が確認された後に W-7 (コントロールに PBS)、W-13 (コントロールに PBS) を週に 5 日間腹腔内投与し、腫瘍径の変化を計測した。また、実験終了時に血算の測定と各臓器について病理切片を作成し、各臓器の副作用の有無の確認を行った。</p> <p>【結果】 1. W-7 および W-13 は各種 MM 細胞株に対して濃度依存的に増殖を抑制した。 2. W-7 および W-13 は MM 細胞株の細胞周期を G1 期で停止させた。また、各種 cyclin および cyclin</p>			

dependent kinase の発現を低下させ、p21^{cip1} の発現を上昇させた。

3. W-7 および W-13 は MM 細胞株のアポトーシスを誘導した。また、各種 caspase を活性化し、ERK1/2 のリン酸化レベルを上昇させ、STAT3 のリン酸化レベルを低下させた。

4. W-7 および W-13 は MM 細胞株の細胞内カルシウム濃度を上昇させ、ミトコンドリア膜電位を脱分極させた。

5. W-7 および W-13 はマウス皮下に移植した RPMI8226 細胞の増殖を抑制した。また、実験終了時の血算や各臓器の病理切片では明らかな異常は認めなかった。

【結語】

カルモジュリン阻害剤は MM 細胞株の細胞周期を停止させ、caspase を介したアポトーシスを誘導する。また、マウス皮下腫瘍モデルにおいても腫瘍の増大を阻害する。カルモジュリン阻害は MM 治療の新規作用機序としての可能性を秘めていると考える。

掲 載 誌 名	BMC cancer	第 14 卷, 第 882 号	
(公表予定) 掲 載 年 月	2014年 11月	出版社(等)名	BioMed Central
Peer Review	④ 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。