



Title	Molecular mechanism underlying the antiproliferative effect of suppressor of cytokine signaling-1 in non-small-cell lung cancer cells
Author(s)	嶋田, 和貴
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34174
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論 文 内 容 の 要 旨
Synopsis of Thesis

氏名 Name	嶋田 和貴
論文題名 Title	Molecular mechanism underlying the antiproliferative effect of suppressor of cytokine signaling-1 in non-small-cell lung cancer cells (非小細胞肺がんにおけるSOCS-1の増殖抑制効果とその分子生物学的機序)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
SOCS-1の非小細胞肺がん細胞の増殖における役割とそのメカニズムをin vitroで解析し、マウス皮下移植モデルを用いて、SOCS-1の非小細胞肺がんに対するin vivoでの抗腫瘍効果を検証する。	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
(方法)	
1) 非小細胞肺がん細胞株3株 (A549, LU65, PC9) にSOCS-1を強制発現させ、発現の有無と細胞増殖への影響を調べた。 2) 非小細胞肺がん細胞株3株にSOCS-1を強制発現させ、SOCS-1によるJAK/STAT3経路の制御を調べた。 3) SOCS-1強制発現とJAK阻害薬との間で、細胞増殖への影響の差を調べた。 4) 非小細胞肺がん細胞株A549にSOCS-1を強制発現させ、非小細胞肺がんの生存や増殖に重要とされるFAK、EGFRの活性化の変化を調べ、並びにFAKやEGFR抑制時の増殖抑制への効果も調べた。 5) A549でPhosphokinase arrayを用いて、SOCS-1による制御を受けるシグナル経路を網羅的に検討した。 6) ネードマウスを用いた非小細胞肺がん皮下移植モデルを作成し、アデノウイルスベクターを用いてSOCS-1を腫瘍内に局所投与して、投与後週2回、3週に渡ってコントロールのLacZ投与群に対する腫瘍体積の比較を行い、in vivoにおけるSOCS-1の抗腫瘍効果を検証した。	
(結果)	
1) 各細胞株に対して、アデノウイルスベクターを用いてSOCS-1を強制発現させて、MTS assayを用いて細胞増殖を調べたところ、A549とLU65ではSOCS-1によって増殖が抑制された。各細胞株のタンパクサンプルを用いたウェスタンプロット法では、いずれの細胞株でもSOCS-1は同様の発現量であることを確認した。今回の研究では非小細胞肺がんにおけるSOCS1の作用点を明らかとしたいため、以後、A549とLU65を中心に検討を進めた。 2) ウェスタンプロット法で、各細胞株のJAKファミリーキナーゼ(JAK1, JAK2, TYK2)発現の抑制がSOCS-1発現時に確認された。並びにJAKファミリーキナーゼの抑制に伴って、STAT3活性が抑制されたこともウェスタンプロット法で確認した。また、A549とLU65ではJAK阻害薬による増殖抑制効果を認めた。 3) AdSOCS1とJAK阻害薬の各々がSTAT3の活性を十分に抑制する濃度で比較を行った。SOCS-1感受性であるA549とLU65では、SOCS-1強制発現のほうがJAK阻害薬よりも強い増殖抑制を示した。 4) ウェスタンプロット法で、SOCS-1強制発現下でFAKやEGFR活性の抑制を確認した。これに対して、JAK阻害薬を用いたときはFAKやEGFR活性の抑制を認めなかった。siRNAによるFAKのノックダウンやEGFR阻害薬のPD153035を投与下でA549の増殖は抑制され、FAKやEGFRはA549の増殖や生存に関与することが示された。一方、JAK阻害薬とFAK-siRNAでJAKとFAKを同時に阻害、またはJAK阻害薬とEGFR阻害薬でJAKとEGFRを同時に阻害すると、各々の条件下でSOCS-1強制発現と同様の抗腫瘍効果を示した。 5) Phosphokinase arrayでは、SOCS-1強制発現下でp53活性の上昇を認めました。ウェスタンプロット法でも、p53のSer15でリン酸化の上昇を認め、p53の活性化を確認した。 6) SOCS-1投与群はコントロールに対して有意に腫瘍体積の減少がみられ、腫瘍内ではSTAT3の活性化も阻害されていた。またKi67免疫染色では、SOCS1強制発現群で細胞分裂が停止していることが示唆され、TUNEL解析でもSOCS1強制発現群においてアポトーシス促進を認めた。	
〔総括(Conclusion)〕	
SOCS-1はJAK/STAT3、FAK、EGFR、p53を介したシグナルを制御することで非小細胞肺がん細胞の増殖に対して抑制的に働くと示唆され、in vivoにおいても抗腫瘍効果もつことが明らかとなった。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 嶋田 和貴		
論文審査担当者	(職)	氏 名
	主 査 大阪大学教授	<u>熊、御 浩</u>
	副 査 大阪大学教授	<u>金 田 安 史</u>
副 査 大阪大学教授	<u>奥 村 明 之 道</u>	
論文審査の結果の要旨		
<p>Suppressor of Cytokine Signaling (以下SOCS) ファミリー分子の1つであるSOCS-1は、様々なサイトカインのシグナルによって発現が誘導され、チロシンキナーゼの一つであるJAKと結合して活性を阻害することでSTAT3の活性化を抑制し、これらの細胞内シグナル伝達を負に制御することが明らかとなっている。近年、非小細胞肺癌を含む様々な癌でJAKが新規治療標的として注目されている。一方、SOCS-1による細胞内のシグナル伝達制御が非小細胞肺癌細胞の増殖に果たす役割は明らかではない。</p> <p>今回我々が行った非小細胞肺癌細胞株を用いたin vitro実験とマウス皮下移植モデルを用いたin vivo実験から、SOCS-1はJAK/STAT3、FAK、EGFR、p53を介したシグナルを制御することで癌細胞の増殖抑制効果を示すと示唆され、in vivoにおける抗腫瘍効果も明らかとなった。</p> <p>SOCS-1の非小細胞肺癌に対する作用機序の解明は今後の治療応用に有益であると考えられ、報告したところ日本癌学会の雑誌に掲載されることとなり、学位論文に値すると考えられた。</p>		