OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Enhancement of radiosensitivity by NF-kappaB decoy oligodeoxynucleotide
Author(s)	中村, 聡明
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43800
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。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

氏名	中村聡明（なかむらさとあき）
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学位記番号	第16881号
学位授与年月日	平成14年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科生体統合医学専攻
学位論文名	Enhancement of radiosensitivity by NF-kappaB decoy oligodeoxynucleotide （おとり型核酸医薬NF-kappaBデコイを用いた放射線感受性の増感）
論文審査委員	（主査） 教授 井上 俊彦 （副査） 教授 金田 安史　教授 野村 大成

論文内容の要旨

【背景と目的】

転写因子NF-kappaBは、様々な刺激に対してサイトカイン・増殖因子などの発現を制御することにより免疫・炎症反応において中心的な役割を演じていることが知られている。また最近では抗アポトーシス遺伝子の発現を制御していることも解明され、全体として細胞を生存に導くための中心的な因子であると考えられるようになった。最近、おとり型核酸医薬（NF-kappaBデコイ）によりNF-kappaB転写を競合的に阻害し、サイトカイン・抗ガン剤治療に対するがんの治療抵抗性を減弱したり、がん悪液質を改善したりすることが報告されている。本研究はHVJ-liposome法を用いてヒト舌癌培養細胞SASにNF-kappaBデコイを導入することにより、放射線感受性の増感を図るものである。

【方法ならびに成績】

1）HVJ-Liposome法によるデコイ導入の検討

NF-kappaB転写制御をデコイで抑えるためには、活性化NF-kappaBが存在する細胞核に、デコイを効率的に導入することが必須である。ヒト舌癌培養細胞SASにおけるHVJ-liposome法によるデコイの導入効率を明らかにするため、FITCで蛍光ラベルしたNF-kappaBデコイをSAS細胞に導入した。核の位置を明らかにするため、核を選択的に染色するヘキスト33342にて2重染色を行った。導入24時間後にNF-kappaBデコイのSAS細胞核への導入を認めた。また1回の導入で少なくとも5日間の発現持続を認めた。

2）NF-kappaBのDNA結合能の検討

NF-kappaBデコイによるNF-kappaBのDNA結合能の抑制を検討するため、SAS細胞から抽出した核タンパクを用い、Electrophoretic mobility shift assay（EMSA）を行った。放射線照射5Gyにて、無照射群に比べNF-kappaBのDNA結合能は増加した。これに対し、NF-kappaBデコイ導入群においては、NF-kappaBの著明なDNA結合能低下を認めた。Scrambleデコイ導入群ではわずかな結合能低下を認めるのみであった。

3）アポトーシスへの影響の検討

NF-kappaBデコイによるアポトーシス細胞の割合の変化を検討するため、アポトーシス定量化試験を行った。ヘキスト染色にて核の断片化・凝集を指標とし、放射線2.5Gy・5Gy照射後の全細胞中におけるアポトーシス細胞の割

合を定量化した。NF-kappaB デコイ導入群において、Scramble デコイ導入群・HVJ-liposome ベクターコントロール群に比べ、有意なアポトーシス細胞の増加を認めた。

4）細胞増殖への影響の検討

NF-kappaB デコイによる細胞増殖への影響を検討するため、増殖阻害試験を行った。Coulter cell counter を用い、放射線2.5Gy・5Gy 照射から72時間後の細胞数の変化を検討した。NF-kappaB デコイ導入群において、Scramble デコイ導入群・HVJ-liposome ベクターコントロール群に比べ、有意な細胞増殖の抑制を認めた。

【総括】

本研究は、HVJ-liposome 法により NF-kappaB デコイを効率的に細胞核へ導入し、NF-kappaB の DNA 結合を抑制することを示した。そしてこの DNA 結合阻害により、アポトーシス細胞が増加し、SAS 細胞における放射線感受性の増感が起こることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

転写因子 NF-kappaB は、様々なストレス刺激に対して抗アポトーシス・サイトカイン・増殖因子などの遺伝子発現を制御することにより、細胞を生存に導くための中心的な因子であると考えられている。またおとり型核酸医薬デコイは、転写因子の働きを抑制することにより多くの遺伝子発現を調節することが可能である。本研究はヒト舌癌細胞に NF-kappaB デコイを導入し、アポトーシスを増やすことにより、放射線治療の増感を図った世界初の報告である。今後の癌の放射線治療において、新たな研究の方向性を与えるものであり、学位に値すると考える。