



Title	肺癌細胞増殖制御における5-リポキシゲナーゼの関与
Author(s)	山崎, めぐみ
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47231
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 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	山崎 めぐみ
博士の専攻分野の名称	博士(薬学)
学位記番号	第 21110 号
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 薬学研究科生命情報環境科学専攻
学位論文名	肺癌細胞増殖制御における 5-リポキシゲナーゼの関与
論文審査委員	(主査) 教授 西澤 恭子 (副査) 教授 八木 清仁 教授 土井 健史 教授 淡田 修久

論文内容の要旨

日本人の主な死因は感染症から生活習慣病関連疾患へと移行している。癌は 1981 年以来、死亡原因の 1 位となっており、その中でも肺癌は罹患率、死亡率ともに急激に増加している。これらのことから、肺癌に対する有効な予防法、治療法の確立が強く求められる。

癌の危険因子のうち特に重要なものとして喫煙と食物が挙げられている。特に ω -6 系不飽和脂肪酸の多量摂取と発癌には高い相関関係があることが示されている。 ω -6 系不飽和脂肪酸の一つであるアラキドン酸は、欧米型の食生活では最も主要な構成脂肪酸である。アラキドン酸はホスホリパーゼ A2 (PLA2) によって細胞膜リン脂質から遊離し、アラキドン酸カスケード (シクロオキシゲナーゼ (COX) が関わる系と、リポキシゲナーゼ (LOX) が関わる系、シトクロム P450 が関わる系に大別される) により、プロスタグランジン (PG) やトロンボキサン (TX)、ロイコトリエン (LT) など、エイコサノイドと呼ばれる生理活性物質へ代謝される。近年、癌増殖とアラキドン酸代謝産物の密接な関連を裏付ける研究が進み、癌におけるアラキドン酸代謝産物の重要性が COX 経路を中心として数多く報告されている。一方で、最近では LOX 経路も癌と関連していることが明らかとなってきた。

LOX は非ヘム鉄を含む酸素添加酵素で、COX とともにアラキドン酸代謝を担う重要な酵素である。LOX 系では LT が産生されるが、5-LOX はその初発反応を触媒する酵素である。5-LOX が発現している主な組織の一つは肺であり、ここで産生される LT は気管支喘息など炎症反応に関わっている。さらに LT は細胞増殖促進作用を有するという報告もあり、肺癌との関連が示唆される。これらのことから、5-LOX を阻害すればある種の癌を制御できる可能性があると考えられている。実際に 5-LOX 阻害剤が *in vitro* において、培養癌細胞の増殖を強力に阻害するという報告は数多くなされている。しかしそのメカニズムは未だ明らかにされておらず、中には逆に 5-LOX 阻害剤が癌細胞の増殖を誘導するという報告もある。

また、ステロイドホルモン感受性の癌である子宮癌や乳癌、前立腺癌なども、高脂肪食の摂取と発症に相関があるといわれている。当研究室では、エストロゲン感受性マウス睾丸間質細胞腫から樹立した B-1F 細胞の増殖が、エストロゲン非存在下であっても 5-LOX 阻害剤により強く促進されることを報告し、ホルモン依存性細胞増殖と 5-LOX 経路が関連している可能性を示唆してきた。脂肪酸代謝は生体の維持にとっても必須のイベントであり、非常に微妙な均衡を保って制御されている。癌の発生、進行と 5-LOX の関わりを理解し、個体差の大きいヒトの臨床応用へとつなげていくためには、*in vitro* で現れる差異についても詳細に調べるのが極めて重要である。本研究では、先に

記した背景に基づき、5-LOX が関わる肺癌細胞増殖制御機構の解明を目的とした。

第一章では、肺癌細胞における 5-LOX 阻害剤の影響が、細胞や条件によって異なる機序につき検討することとした。5-LOX 阻害剤 AA861 に対し、異なる細胞増殖（あるいは細胞死）の挙動を示す 3 種類の肺癌細胞株を用いて、応答の違いをもたらす原因のひとつに 5-LOX による脂肪酸代謝過程で発生する酸化ストレスがあることを見出した。さらにこの脂肪酸代謝と鉄が共役する時、強力な活性酸素種が発生して遺伝子変異の原因となる塩基修飾が起こることも明らかにした。細胞特異的に酸化ストレスの発生が生じる機構については、5-LOX 並びに 5-LOX 活性化蛋白質の発現量や、caspase-8 による 5-LOX の限定分解が関与している可能性を示唆した。

ついで第二章では、ステロイドホルモンのプロゲステロン (Prog) が LT 産生抑制を介して細胞増殖を制御する機序につき精査した。まず、ヒトより摘出された肺癌扁平上皮癌組織から、Prog 感受性に増殖する SN96-42 細胞を樹立した。SN96-42 細胞は血清非存在下であっても、Prog 含有培地で増殖可能である。本細胞にプロゲステロン受容体 (PR) が発現していることは、Prog 結合特異性アッセイや免疫染色で確認した。

興味深いことに、本細胞は Prog 非存在下、AA861 添加により細胞増殖が促進される、また Prog 依存的に増殖させた細胞における LT 産生量を測定したところ、Prog 濃度に反比例して低下していることが判明した。また 5-LOX 代謝産物の LT (特に LTC₄) は Prog 依存的な細胞増殖を阻害したが、この LTC₄ による細胞増殖抑制は、LTC₄/D₄/E₄ アンタゴニストの pranlukast を処理すると回復することも確認された。この結果から LT は、LT 受容体を介し、細胞増殖抑制作用をもたらしていることが示唆された。

すなわち、本細胞では、Prog が PR へ結合すると何らかの機序で 5-LOX 活性が抑制され、LT 産生が減少して LT 受容体を介する細胞増殖抑制シグナルが発生しなくなる。その結果逆に細胞増殖が誘導されるという機序の存在が示唆された。このことは、これまであまりホルモンとの関連が注目されてこなかった肺癌が Prog の標的となり、増殖の制御を受けている可能性を示す興味深い知見である。また、本細胞と同様の機序で増殖が制御されている細胞においては、5-LOX 阻害剤はその増殖を促進してしまうため、注意が必要である。

以上の結論として、5-LOX 阻害剤がこれまで多く報告されている増殖抑制効果のみならず、逆にアポトーシス回避あるいは増殖誘導作用を示すことを、酸化ストレスと LT 産生抑制という点からその機序の一端を明らかにした。今後、LOX 代謝とホルモン、そして酸化ストレスに一連のつながりが見出せる可能性もあり、5-LOX をターゲットとした抗癌療法の開発において、これらの知見は非常に有用であると考えられる。

論文審査の結果の要旨

近年、5-Lipoxygenase (5-LOX) 産物が癌細胞の増殖にも関与し、5-LOX 阻害剤が癌細胞の増殖を抑制するとの報告が増えている。しかし、逆に 5-LOX 阻害剤がその増殖を促進するとの報告もある。本研究は、その応答の差異が生じる機序を、肺癌細胞株を用いて解析したものである。

その結果、以下の成果が得られた。

1. 脂肪酸代謝 5-LOX 経路で発生する酸化ストレスは、細胞増殖の応答性に差異をきたす一因である。
2. この脂肪酸代謝と鉄が共役すると強力な活性酸素種が発生し、塩基修飾・apoptosis を引き起こす。
3. 酸化ストレスの発生には、5-LOX や FLAP の発現、caspase-8 による 5-LOX の部分分解が関与する。
4. 喘息治療中に胸部陰影の急速な増大を見た肺癌患者から樹立した細胞株の増殖機序解析から、progesterone 依存性増殖を示す肺癌があり、その標的の 1 つは 5-LOX 経路である。

これらの成果から、5-LOX 阻害剤はこれまでに数多く報告されている増殖抑制のみならず、逆に増殖誘導を引き起こす可能性もあり、その機序の一端が明らかとなった。今後の 5-LOX をターゲットとした癌治療・予防の試みにおいて、これらの知見は、役立つことが期待され、博士 (薬学) の学位授与に値するものと考えられる。