



Title	Oxaliplatin induces mitotic catastrophe and apoptosis in esophageal cancer cells
Author(s)	顔, 秋瑜
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/48955">https://hdl.handle.net/11094/48955</a>
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	ガ ン 顔 チ ュ ー 秋 イ ー 瑜
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 2 1 8 3 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 20 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当  医学系研究科臓器制御医学専攻
学 位 論 文 名	Oxaliplatin induces mitotic catastrophe and apoptosis in esophageal cancer cells. (食道癌細胞におけるオキサリプラチンによる mitotic catastrophe とアポトーシスの誘導)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 門 田 守 人  (副査) 教 授 青 笹 克 之    教 授 金 倉 譲

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### (目的)

新規白金製剤であるオキサリプラチンは 5-FU/leucovorin との併用で大腸癌に対して高い臨床効果を発揮し、現在では大腸癌化学療法の key drug となっている。L-OHP の薬剤特性として platinum-DNA adduct 形成による細胞障害をもたらすことは知られているがその他のメカニズムの多くは不明である。また、食道癌におけるオキサリプラチンの腫瘍抑制効果についてはまだ明らかにされていない。本研究ではオキサリプラチンの細胞増殖抑制効果、並びに細胞死（主としてアポトーシスと mitotic catastrophe）誘導効果とそのメカニズムについて検討した。Mitotic catastrophe は necrosis、apoptosis、autophagy に続く第四の細胞死である。

#### (方法と成績)

- 2 種類の食道癌細胞株を用いた。(TE3：食道扁平上皮癌由来、TE7：食道腺癌由来) オキサリプラチンを 24 時間作用させた時の増殖抑制曲線から求めた IC50 値は TE3、TE7 とともに  $2.5 \mu\text{M}$  であった。一方、第 1 世代白金製剤であるシスプラチンに対する IC50 値は、TE3 は  $2.5 \mu\text{M}$ 、TE7 は  $3 \mu\text{M}$  であった。
- Flow cytometry による細胞周期解析では、オキサリプラチン投与後、TE3 細胞は G2-M arrest を起こし、その後、sub-G1 が増加してアポトーシスが誘導された。一方、TE7 でも G2-M arrest がみられたが、その後 4N より更に DNA 含量の多い分画で細胞が増加した。ヘマトキシリン核染色により、巨大で多核状態となった細胞変化を多数認め mitotic catastrophe が起きていることが観察された。
- IAP (inhibitor of apoptosis protein) family である survivin は蛋白・RNA レベルで TE3 よりも mitotic catastrophe を起こした TE7 で顕著に減少した。そこで survivin siRNA を用いて、survivin 発現を強制的に抑制したところ、TE7 のみならず、TE3 でも mitotic catastrophe がよく誘発された。
- TE7 での survivin 減少のメカニズムについて検討した。TE7 にプロテアソーム阻害剤である lactacystin を作用させると、オキサリプラチンによる survivin の減少が阻害された。TE7 の survivin プロモーター活性を reporter plasmid を用いて測定すると、オキサリプラチンは survivin プロモーター活性を抑制し、survivin プロモーター

を活性化する Sp1 転写因子の発現を減少させた。更に Sp1 の阻害剤は survivin のプロモーター活性を大きく低下させた。オキサリプラチンは、同じく survivin プロモーターを活性化する Stat3 転写因子をリン酸化阻害により、不活化したが、Stat3 阻害剤は survivin プロモーター活性にほとんど影響を与えなかった。

5. TE3 でのアポトーシス誘導のメカニズムについて検討した。オキサリプラチン投与により Bcl ファミリーに属する抗アポトーシス因子の低下やアポトーシス促進因子の増加はみられず、逆に BH3-only グループである Bad、Bid、Puma、Noxa 等のアポトーシス促進因子はむしろ低下していた。ミトコンドリア膜電位の変化は僅かであり cytochrome C の細胞質への放出はみられなかった。一方、アポトーシス経路の下流にあるカスパーゼの活性化と、アポトーシスの指標である PARP (poly ADP-ribose polymerase) の cleavage が認められた。

(総括)

オキサリプラチンは食道癌細胞に mitotic catastrophe やアポトーシスを誘導した。オキサリプラチンによる TE7 における mitotic catastrophe の誘導は survivin の低下と関連しており、そのメカニズムとして、Sp1 転写因子抑制による survivin 産生の低下と、プロテアソームによる分解亢進の両者の関与が考えられる。一方、TE3 細胞でのアポトーシス誘導はカスパーゼ依存性であった。本研究により、オキサリプラチンによる食道癌の抗腫瘍効果には、異なるタイプの細胞死が関与することが明らかとなった。

## 論文審査の結果の要旨

白金系抗癌剤オキサリプラチン (L-OHP) の食道癌細胞に対する抗腫瘍効果の多くは未だ不明である。本研究では、L-OHP の細胞死誘導効果とそのメカニズムについて検討した。L-OHP 投与によって G2 arrest 後、異なるタイプの細胞死が誘導された。すなわち TE7 (腺癌) では mitotic catastrophe (MC) が、TE3 (扁平上皮癌) ではアポトーシスが起きていた。TE7 では MC に関わる分子の中で、survivin の減少がみられ、実際その siRNA により MC が誘発されることが確認された。L-OHP による survivin 抑制のメカニズムとして Sp1 転写因子の阻害による survivin プロモーター活性の抑制と、プロテアソームによる survivin 蛋白分解亢進の両者の関与が示唆された。一方、TE3 でのアポトーシス誘導はカスパーゼ依存性であった。本研究により、L-OHP による食道癌の抗腫瘍効果には、アポトーシス以外に survivin 制御を通じた MC 誘導も関与することがはじめて明らかとなり、今後の癌治療の発展に寄与する可能性があるので学位に値すると認める。