OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Prediction of paclitaxel sensitivity by CDK1 and CDK2 activity in human breast cancer cells
Author(s)	中山, 智
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/54191
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

【154】

氏名	中山（なかやま）　智（さとし）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　２３４５７　号
学位授与年月日	平成22年２月16日
学位授与の要件	学位規則第４条第２項該当
学位論文名	Prediction of paclitaxel sensitivity by CDK1 and CDK2 activitiy in human breast cancer cells （CDK1及びCDK2活性による乳癌細胞のパクリタキセル感受性予測）
論文審査委員	（主査） 教　授　野口眞三郎 （副査） 教　授　青笹　克之　　教　授　奥村明之進

論文内容の要旨

〔　目的　〕

パクリタキセルは、現在乳癌治療において汎用されている効果の高い抗癌剤の１つである。しかし、その有効率は約50％であり、効果が発現しない残りの50％の乳癌患者ではパクリタキセルによる抗腫瘍効果の恩恵を受けることなく、本薬剤による副作用に苦しむことになる。感受性のない乳癌患者への抗癌剤投与は医療経済的観点からも問題である。従って、乳癌のパクリタキセル感受性を本剤投与前に正確に診断することは臨床上極めて重要であると考えられる。

これまでに我々は、パクリタキセル誘導細胞死において、紡錘体形成チェックポインの活性化が必要であることを報告してきた。また、このパクリタキセル誘導細胞死には、細胞周期の有糸分裂期進行の中心的役割を担っているCDK1分子が重要な役割を果たしていることも報告されている。更に、増殖の速い腫瘍は抗癌剤に対して高い感受性を示すことも知れられており、細胞周期関連タンパク（CDK1、CDK2）の活性と抗癌剤感受性との相関が推察される。そこで本研究では、培養細胞株・担癌マウスモデルを用いて、パクリタキセル処理前後のCDK1およびCDK2の酵素活性を測定し、これらの活性がパクリタキセルの感受性予測因子となり得るか否かを検討した。

〔　方法・結果　〕

１）パクリタキセルの細胞周期、アポトーシス、および核形状への作用と薬剤感受性

4種の乳癌由来細胞株を用いて、パクリタキセルの感受性を増殖アッセイ（MTTアッセイ）により判定した。4種の細胞株におけるIC50値は、それぞれMDA-MB-468；1.8nM、MDA-MB-231；2.4nM、T47D；4.4nM、MCF7；7.2nMであった。フローサイトメトリーによるDNA解析の結果、すべての細胞株で薬剤処理後に細胞周期のM期集積が確認された。さらにアポトーシスの指標となるSub-G1 fractionの増加はMCF７細胞を除いた3細胞株で確認され、薬剤による細胞死誘導が示唆された。一方、クロマチン染色の観察結果から、薬剤処理後にリング状のクロマチン凝集がT47D細胞以外の3細胞株で確認された。以上の結果より、細胞株のパクリタキセル感受性（IC50値）と上述の細胞応答（M期集積、アポトーシス誘導、リング状核形成）の間には

一定の相関関係を見出すことはできなかった。

２）パクリタキセルのCDK1、CDK2比活性への作用と薬剤感受性
上記4種の細胞株を用いて、細胞周期関連タンパク質の解析を行った。MDA-MB-231、MDA-MB-468、T47D細胞において、薬剤処理後にCDK1比活性の上昇がみられた。また、MDA-MB-468、T47D細胞においては、CDK2比活性の上昇もみられた。いずれの比活性変化も結合分子であるサイクリンB1やサイクリンEの発現量の変化との相関は見られなかった。さらに、薬剤処理前後のCDK1比活性の変化量は薬剤感受性の指標であるIC50値との相関を示し（R2=0.86）、CDK1比活性の変化が薬剤感受性予測因子となることが示唆された。

３）Xenograftsを用いたパクリタキセル感受性とCDK比活性に関する検討
上記4種の細胞株の坦癌マウス（ヌードマウス乳腺皮下移植）を作成し、パクリタキセル投与後に腫瘍が縮小したMDA-MB-468、MDA-MB-231を感受性腫瘍、縮小が確認できなかったT47D、MCF7を耐性腫瘍とした。次に、4種の細胞株の坦癌マウスにパクリタキセルを投与し、24時間後に腫瘍を摘出して薬剤投与前後のCDK1及びCDK2の発現量並びに酵素活性を測定した。CDK1比活性の上昇がみられた細胞株はXenograftsの系でパクリタキセル感受性腫瘍であり、CDK1比活性の上昇が見られない細胞株はパクリタキセル耐性腫瘍であった。また、CDK2比活性は耐性腫瘍よりも感受性腫瘍においてより高い比活性値を示し、腫瘍の増殖能と薬剤感受性との相関が示唆された。

〔　総括　〕
パクリタキセル処理後のCDK1比活性の変化は腫瘍のパクリタキセル感受性の指標となること、さらに、パクリタキセル処理前のCDK2比活性もパクリタキセル感受性と相関することが示唆された。以上の結果より、乳癌細胞をパクリタキセル存在下に培養してCDK1及びCDK2比活性を処理前後に測定することは、パクリタキセル感受性を予測する上で有用と期待される。今後、臨床検体を用いて本研究のコンセプトを検証する予定である。

論文審査の結果の要旨

化学療法（抗癌剤治療）は、その高い抗腫瘍効果により乳癌治療を大きく改善してきた。しかし、抗腫瘍効果が得られない耐性患者の存在も明らかとなっており、感受性のない患者への投与は医療経済的観点からも問題となる。従って、薬剤投与前にその効果を正確に診断することは臨床上極めて重要であると考えられる。

本研究は、細胞周期関連タンパク質に着目した解析を行い、パクリタキセルに対する感受性予測診断法の確立を目指したものである。パクリタキセル感受性・耐性群において細胞周期関連タンパク質を比較検討した結果、サイクリン依存キナーゼ（CDK）1とCDK2を組み合わせることで、乳癌のパクリタキセル感受性を精度良く予測することが、培養細胞並びに坦癌マウスモデルにより確認された。

薬剤感受性予測診断法の開発は、今後の乳癌治療の向上に繋がる重要な研究である。実際に本研究は臨床検体を用いた検証も実施し、良好な成績が得られており、将来の臨床応用が期待される。以上より、本論文は博士（医学）の学位授与に値するものと判断する。