



Title	Antitumor effect of antiplatelet agents in gastric cancer cells : an in vivo and in vitro study
Author(s)	三上, 城太
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/55772
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	三上 城太
論文題名 Title	Antitumor effect of antiplatelet agents in gastric cancer cells: an in vivo and in vitro study (胃癌細胞に対する抗血小板薬の抗腫瘍効果)
論文内容の要旨 〔目 的〕 血小板は線溶系や免疫、炎症だけでなく、癌の増殖や転移にも重要な働きを示すことが知られている。これには腫瘍細胞によって活性化され凝集した血小板が様々な腫瘍増殖因子を放出し、腫瘍増殖や播種、血管新生を仲介するといったtumor cell-induced platelet aggregation (腫瘍細胞誘導性血小板凝集; TCIPA) という機序が考えられている。また、抗血小板作用をもつ薬剤による抗腫瘍効果についてもこれまでに複数報告されており、近年では循環器疾患を有する患者に対してアスピリン投与の効果を検証したランダム化比較試験の副次的解析の結果、腺癌を発生した患者におけるアスピリンの遠隔転移抑制効果が報告されている (Rothwell et al. Lancet 2012)。しかし、血小板数自体を低下させることで抗腫瘍効果があるのかどうかや、胃癌細胞に対するアスピリンによる抗腫瘍効果の機序についてはいまだ不明である。そこで本研究では、胃癌に対する抗血小板薬の抗腫瘍効果についてin vivoとin vitroの実験系を用いて検討し、そこに関与する因子を明らかにすることを目的とした。 〔方法〕 in vivo: 胃癌細胞株MKN-45を用いてヌードマウスに皮下腫瘍を作成し、抗血小板抗体 (0.5 µg/g of body weight) を尾静脈より投与した群とcontrol IgG抗体を投与した群との間で腫瘍増殖抑制効果を比較した。また、同様に皮下腫瘍を作成したヌードマウスにアスピリンを投与した群と水のみを投与した群との間で腫瘍増殖抑制効果を比較し、それぞれの腫瘍に対してKi67、CD31による免疫染色を行って腫瘍内のKi-67陽性細胞率とMVD (Microvessel density) についても比較した。 in vitro: 3つの胃癌細胞株 (MKN-45、AGS、NUGC-3) を用いて、血小板数の減少ならびにアスピリンの添加による腫瘍増殖抑制効果を検討した。また、血小板とアスピリン添加による4つのサイトカイン (interleukin-6、platelet-derived growth factor、transforming growth factor-β、prostaglandin E2) 発現量の変化をELISA法で調べ、さらに細胞内におけるmicroRNA発現量の変化をmicroRNA microarrayを用いて解析した。 〔成績〕 in vivo: ニードマウスに抗血小板抗体を投与することで血小板数を半減させたところ、control群と比べて腫瘍の増殖は有意に抑制されており、アスピリン服用群もcontrol群と比べて腫瘍の増殖が有意に抑制されていた。また、これらの腫瘍細胞における免疫染色の結果では、Ki-67陽性率やMVDは抗血小板抗体投与群やアスピリン投与群において、control群と比べて有意に低下していた。 in vitro: 検討した3つの胃癌細胞株のうち、MKN-45とAGSにおいては$2 \times 10^7/\text{ml}$の血小板よりも$1 \times 10^7/\text{ml}$の血小板の方が有意に腫瘍増殖能の低下が認められた。また、MKN-45またはAGS単独のdishにアスピリンを添加しても腫瘍増殖抑制能の低下は認められなかったが、血小板の存在下でアスピリンを添加すると有意な増殖抑制効果を認めた。これらの培養上清におけるサイトカインの発現量は、今回のアスピリンによる腫瘍増殖抑制とは関連が認められなかった。一方、培養液から抽出した細胞のmicroRNA microarray解析では、血小板との共培養で発現が上昇し、さらにアスピリン添加によって発現が低下するmicroRNAは7個抽出された。それら7個のmicroRNAのpre-mirをMKN-45細胞株に導入すると、mir-4670-5pを導入した細胞株において有意な増殖効果を示した。 〔総 括〕 本研究により、血小板は胃癌細胞の増殖能を促進させるが、その増殖能は抗血小板抗体やアスピリンによって低下することが示された。また、血小板を介したアスピリンの抗腫瘍効果には、細胞内のmir-4670-5pの発現が関与していることが示唆された。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 三上 城太

	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査 大阪大学教授	土岐 祐一郎
	副 査 大阪大学教授	野口 眞三郎
	副 査 大阪大学教授	奥村 明之進

論文審査の結果の要旨

in vivoでは皮下腫瘍を接種したヌードマウスに対して抗血小板抗体による血小板減少効果およびアスピリンの投与により、腫瘍増大は有意に抑制された。in vitroでは腫瘍細胞と血小板を共培養すると腫瘍増殖がみられるが、血小板数を減少させると増殖は抑制された。またアスピリンの添加によっても増殖は抑制され、その増殖抑制効果はアスピリン単独では認められず、血小板の存在下で確認された。さらに血小板を介したアスピリンの抗腫瘍効果に、腫瘍細胞内のmir-4670-5pの発現変化が関与している結果が示された。胃癌に対する抗血小板抗体やアスピリンによる抗腫瘍効果はこれまでほとんど報告がなく、また、血小板とmir-4670-5pとの関連は本論文が初めての報告となるため新規性がある。今後これらの結果を踏まえて、胃癌に対する新規治療の開発につながる可能性があり、非常に価値があると考えられるため、本論文は学位論文に値する。