

Title	Inhibition of autophagy potentiates the antitumor effect of the multikinase inhibitor sorafenib in hepatocellular carcinoma
Author(s)	清水, 聡
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/58991">https://hdl.handle.net/11094/58991</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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論文内容の要旨

〔 目 的 〕

ソラフェニブは肝癌に対して認可された初めての分子標的治療薬であり、Rafキナーゼや種々の受容体チロシンキナーゼの抑制を介して、腫瘍の増殖および血管新生を抑制することが知られている。近年ソラフェニブが進行肝癌患者の生存期間を有意に延長することが明らかにされたが、実際に腫瘍の縮小や消失を得られる症例は少ないのが現状である。今回、飢餓状態下やストレス下での代謝維持に重要なオートファジーが、肝癌におけるソラフェニブ抵抗性へ関与しているかを検討した。

〔 方 法 〕

培養細胞や皮下腫瘍モデルを用いてソラフェニブの投与によるオートファジー活性化への影響を解析した。またsiRNAや薬剤を用いたオートファジー阻害実験を行い、ソラフェニブ投与下においてオートファジーが細胞増殖やアポトーシスに与えている影響について解析した。

〔 成 績 〕

肝癌細胞株Huh7およびPLC/PRF/5の培養上清中にソラフェニブを添加しウェスタンブロットにて検討すると、オートファゴソーム蓄積の指標であるLC3-IIの経時的な発現上昇が認められた。また蛍光顕微鏡を用いた検討においても経時的なオートファゴソームの蓄積が確認された。オートファゴソームはオートファジーの亢進だけでなく、オートファゴソームのライソソーム経路での分解の障害においても蓄積することが知られている。そこでオートファジー経路により分解されるp62の変動を観察することによりオートファジーの活性化を評価した。肝癌細胞株Huh7やHLFにソラフェニブを添加するとp62の分解亢進が認められ、ソラフェニブは肝癌細胞株においてオートファジー経路の活性化を誘導しているものと考えられた。またオートファジーの進行を観察できるmRFP-GFP-LC3発現プラスミドを用いた検討や電子顕微鏡による検討においてもオートファジーの進行が観察された。続いて、ソラフェニブがオートファジーを誘導する機序について検討するために細胞内シグナル伝達の活性について検討した。ソラフェニブを添加すると肝癌細胞のmTORC1の活性が抑制されており、オートファジー亢進の一因と考えられた。さらに、オートファジーの亢進がソラフェニブ治療に与えている影響を検討するためにオートファジー阻害実験を行った。ATG7に対するsiRNAを用いてオートファジーを阻害することによりアポトーシスがより強く誘導されソラフェニブの効果が増強された。オートファジー阻害剤であるクロロキンをを用いた実験においても同様の結果が得られた。このことよりソラフェニブによって誘導されるオートファジーは癌細胞に対して保護的に働いていると考えられた。最後にin vivoにおけるこれらの効果を検討するためヌードマウスにHuh7皮下腫瘍を作成し解析を行った。皮下腫瘍モデルにおいても、ソラフェニブの投与により腫瘍部でオートファジーが誘導されていることが確認され、クロロキンをを用いてオートファジーを阻害するとソラフェニブの効果が有意に増強された。

〔 総 括 〕

今回はソラフェニブがオートファジー経路の活性化を誘導していること、その機序のひとつとしてソラフェニブがmTORC1の活性を抑制していることを新規に示した。またソラフェニブによって誘導されるオートファジーは癌細胞に対して保護的に働いていると考えられ、in vitro/皮下腫瘍モデルのいずれにおいてもオートファジー経路の阻害によりソラフェニブの抗腫瘍効果を高めることができた。

論文審査の結果の要旨

ソラフェニブは肝癌に対して認可された初めての分子標的治療薬であり、臨床試験により進行肝癌患者の生存期間を有意に延長することが明らかにされた。しかし実際に腫瘍の縮小や消失を得られる症例は少ないのが現状であり、肝癌においてソラフェニブ抵抗性のメカニズムを明らかにし、治療効果を改善することは重要な課題である。今回申請者はソラフェニブがオートファジー経路の活性化を誘導していること、その機序のひとつとしてソラフェニブがmTORC1の活性を抑制していることを新規に示した。またin vitro/皮下腫瘍モデルのいずれにおいてもオートファジー経路の阻害によりソラフェニブの抗腫瘍効果を増強することができることを示した。ソラフェニブは現在のところ肝癌において認可されている唯一の分子標的治療薬であり、その治療効果を高める方法としてオートファジーの阻害が有効である可能性を示した点において、本研究は新規かつ臨床的に意義の高い研究と考えられる。

以上より、申請者は学位の授与に値すると考えられる。

【56】

氏 名	清水 聡
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 25102 号
学位授与年月日	平成24年3月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学位論文名	Inhibition of autophagy potentiates the antitumor effect of the multikinase inhibitor sorafenib in hepatocellular carcinoma (オートファジーは肝癌のソラフェニブ抵抗性の一因である)
論文審査委員	(主査) 教授 竹原 徹郎 (副査) 教授 森 正樹 教授 辻本 賀英