



Title	Antiproliferative effect of SOCS-1 through the suppression of STAT3 and p38 MAPK activation in gastric cancer cells
Author(s)	相馬, 大人
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59803
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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >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

【14】

氏 名	相 馬 大 人
博士の専攻分野の名称	博 士 (医学)
学 位 記 番 号	第 2 5 5 8 5 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 24 年 6 月 20 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科外科系臨床医学専攻
学 位 論 文 名	Antiproliferative effect of SOCS-1 through the suppression of STAT3 and p38 MAPK activation in gastric cancer cells (SOCS-1のSTAT3, p38MAPKの活性化制御を介した胃癌細胞の増殖抑制効果)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 澤 芳 樹 (副査) 教 授 竹 田 潔 教 授 熊ノ郷 淳

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

SOCS-1の胃癌細胞増殖における役割とそのメカニズムをin vitroにて解析し、マウス皮下移植モデルを用いて、SOCS-1の胃癌細胞に対するin vivoでの抗腫瘍効果を検証する

〔 方法ならびに成績 〕

(方法)

- 1) 胃癌細胞株5株を用いて、メチル化特異的PCR法によるSOCS-1のDNAのプロモータ領域におけるメチル化の有無と、IFN- γ 刺激下でのSOCS-1の発現抑制の有無をreal time PCR法で解析した。また、STAT3の持続的活性化をwestern blotting法で調べた。
- 2) これらの細胞株のIL-6自己分泌能をELISA法で測定し、IL-6が増殖に関与する可能性を持つ産生株に対して、レセプター抗体を用いてIL-6のシグナルを阻害し、STAT3の活性化や細

胞増殖に与える変化を調べた。

- 3) IL-6産生能を持つ細胞株NUGC3, AGSに対して、アデノウイルスベクターを用いてSOCS1、dnSTAT3を強制発現させ、SOCS-1によるシグナル制御ならびに、STAT3活性化の阻害による細胞増殖への影響を調べた。
- 4) IL-6の自己産生とSTAT3の持続活性化をみとめた2つの細胞株NUGC3, AGSにSOCS-1, dnSTAT3を発現させ、STAT3, MAPK, PI3Kの活性化の変化をウエスタンブロット法で調べ、SOCS-1による、胃癌細胞の増殖抑制に関係するシグナル伝達経路を調べた。また、それらのシグナルの阻害剤を用いて、細胞増殖に与える影響を調べた。
- 5) ノードマウスを用いた胃癌皮下移植モデルを作成し、アデノウイルスベクターを用いてSOCS1を腫瘍内に局所投与して、投与後7, 14, 21日目にコントロールに対する腫瘍径の比較を行い、in vivoにおけるSOCS-1の抗腫瘍効果を検証した。

(結果)

- 1) 胃癌細胞株ではいずれもSOCS-1のメチル化が見られ、IFN- γ 刺激下でのSOCSの発現はコントロールのPBMCと比較していずれの細胞株も著明に抑制されていた。また、NUGC3, AGS, MKN45の3つの細胞株では、STAT3に持続的な活性化が見られた。
- 2) 5株のうち2株、NUGC3とAGSでは、IL-6の自己産生が亢進していたものの、いずれの細胞株もIL-6レセプター抗体を用いたIL-6のシグナル阻害によって、細胞増殖に変化は無く、ウエスタンブロットでも、STAT3の活性化に変化はみられなかった。
- 3) これらの細胞株にアデノウイルスベクターを用いてSOCS1およびdnSTAT3を強制発現させたところ、いずれも細胞株も、細胞増殖が有意に抑制された。また、その細胞増殖の抑制効果は、dnSTAT3と比較し、SOCS-1でより強力にみとめられた。
- 4) SOCS-1, dnSTAT3を強制発現させて72時間後のSTAT3のリン酸化をウエスタンブロット法をもちいて調べたところ、いずれの細胞株もSOCS1, dnSTAT3によってSTAT3のリン酸化は抑制されていた。また、ATF-2を基質としたp38MAPKのキナーゼアッセイでは、SOCS-1を加えた時のみATF2の活性化阻害をみとめた。NUGC3, AGSにJAK阻害剤、p38MAPKの阻害剤を加え、これらのシグナル経路の阻害により、細胞の増殖が抑制されるかを調べたところ、いずれの細胞株もそれぞれの阻害剤で増殖が抑制されており、さらにこれらを両方を加えることで相加的に増殖が抑制されることがわかった。
- 5) SOCS1の抗腫瘍効果を、マウス皮下移植モデルを用いて実験した。方法としてはノードマウスにNUGC3を皮下移植し、細胞投与後、7日毎にアデノウイルスベクターを用いてSOCS1とコントロールを腫瘍内に局所投与して、7日、14日、21日目の腫瘍体積を比較した。SOCS-1投与群はコントロールに対して有意に腫瘍体積の減少がみられ、腫瘍内ではSTAT3の活性化も阻害されていた。

〔 総 括 〕

SOCS-1はJAK/STAT3、p38MAPKを介した2つのシグナルを制御することで、胃癌細胞に対して強い増殖抑制効果を持つことが示唆された。また、SOCS-1はin vivoにおいても、胃癌細胞に対する抗腫瘍効果をもつことが示され、新規癌治療への応用の可能性も考えられた。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

SOCS-1はシグナル伝達経路JAK/STATを阻害し、サイトカインシグナルを負に制御する働きを持つ。近年、SOCS-1の発現異常が、細胞内シグナルを脱制御化させ、様々な癌種の増殖に関与することが示唆されており、胃癌でもSOCS-1の発現異常が高頻度に認められることが報告されている。本研究では、SOCS-1の胃癌増殖における役割と、そのメカニズムを明らかとし、in vivoでの抗腫瘍効果を検証することを目的とした。

胃癌細胞株へSOCS-1を遺伝子導入すると、JAK/STAT3, p38MAPKの活性化が阻害され、細胞の増殖は強く抑制された。

また, JAK/STAT, p38MAPK阻害剤でも胃癌細胞の増殖が抑制され, SOCS-1はJAK/STAT, p38MAPK経路の制御を介して胃癌細胞の増殖を抑制すると推察された. また, マウスによる胃癌皮下移植モデルでも, SOCS-1による抗腫瘍効果が示された.

これらの研究は, SOCS-1による胃癌細胞の増殖抑制のメカニズムの解明や, 癌治療の開発に寄与すると期待され、学位の授与に値すると考えられる.