

Title	Suppressor of cytokine signaling-1 gene therapy induces potent antitumor effect in patient-derived esophageal squamous cell carcinoma xenograft mice
Author(s)	菅生, 貴仁
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/67124
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、 〈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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 菅生 貴仁	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学教授 土岐 祐一郎
	副 査 大阪大学教授 南 池 章
	副 査 大阪大学教授 熊 御 淳
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>炎症性サイトカインシグナルの制御異常は癌の発癌や増殖に関与しているとされる。難治性食道癌に対する新規治療法として、JAK/STATを含む細胞内シグナルを負に制御するSuppressor of cytokine signaling-1 (SOCS1)を用いた遺伝子治療の有効性を明らかにすることを目的とした。</p> <p>食道癌細胞株及び皮下腫瘍モデルマウス(細胞株及び患者腫瘍異種移植(PDX)マウス)に対し、アデノウイルスを用いたSOCS1遺伝子治療(AdSOCS1)の治療効果とその機序について検討した。AdSOCS1はJAK/STAT経路の阻害に加え、FAK/ERK経路を阻害することで良好な増殖抑制効果を認め、アポトーシスが強く誘導された。AdSOCS1は皮下腫瘍モデルマウスに対しても抗腫瘍効果を認め、特にPDXマウスでは腫瘍増大を認めなかった。</p> <p>SOCS1遺伝子治療は、JAK/STAT及びFAK/ERKの阻害によって良好な抗腫瘍効果を認め、前臨床治療モデルであるPDXマウスにおいても著明な治療効果を認めた。</p> <p>以上の内容は学位の授与に値すると思われる。</p>	

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏名 Name	菅生 貴仁
論文題名 Title	Suppressor of cytokine signaling-1 gene therapy induces potent antitumor effect in patient-derived esophageal squamous cell carcinoma xenograft mice (SOCS1遺伝子治療は食道癌患者腫瘍組織移植モデルマウスに対して著明な抗腫瘍効果を持つ)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕 食道癌は、手術・化学療法・放射線治療を含む集学的治療が実施されるものの未だ予後不良であり、難治性癌の一つとされる。一方、近年サイトカインシグナルの制御異常は、癌細胞の増殖に関与することが報告されている。食道癌患者においても、IL-6/JAK/STAT経路の恒常的な活性化が、治療抵抗性や予後に関与するといった報告が散見され、JAK/STAT経路を含むさまざまな炎症性サイトカインシグナルの負の制御分子であるSuppressor of cytokine signaling-1(SOCS1)は、新規癌治療法の標的分子として注目されている。本研究では、食道癌に対する非増殖型アデノウイルスベクターを用いたSOCS1遺伝子治療(AdSOCS1)の効果及びその作用メカニズムについて検討し、さらには前臨床モデルであるヒト食道癌異種移植(Patient-derived xenograft; PDX)マウスにおいてSOCS1遺伝子治療の有効性を明らかにすることを目的とした。	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 食道癌細胞株及びヒト臨床検体を用いて、メチル化特異的PCRにてSOCS1のメチル化解析を行った。SOCS1のメチル化による発現抑制を食道癌細胞株及びヒト臨床検体の癌部で認めた。また、プロモーターのメチル化により食道癌細胞株ではIFN- γ によるSOCS1の発現誘導を認めなかった。 食道癌細胞株に対するAdSOCS1投与についてWestern Blottingを用いた解析の結果、AdSOCS1の濃度依存的にSOCS1の発現を認め、STAT3のリン酸化阻害効果を認めた。また、食道癌細胞株(10株)に対して、AdSOCS1投与72時間後にWST-8を用いてProliferation assayを行ったところ、全ての細胞株において濃度依存的に増殖抑制効果を認めた。さらに、Caspase3/7活性をLuminescence assayを用いて評価したところ、SOCS1の導入によりアポトーシスの誘導が得られることを確認した。 次に、JAK/STAT経路阻害による増殖抑制効果の検討としてJAK特異的リン酸化阻害剤を投与した。STAT3のリン酸化レベルの高いTE4やTE8では良好な増殖抑制効果を示したが、STAT3のリン酸化レベルの低いTE14ではその効果は乏しかった。この結果からAdSOCS1投与によるJAK/STAT経路以外の増殖経路の阻害効果が考えられ、Western Blottingを用いたシグナル解析の結果、AdSOCS1投与によるFAK及びp44/42MAPKのリン酸化阻害効果を認めた。siRNAを用いてFAK経路をknockdownしたところ、p44/42MAPKのリン酸化抑制効果を認め、TE14においても増殖抑制効果を認めた。さらに、JAK阻害剤とsiRNAによるFAK経路のknockdownを併用することによって、3株とも相加的に増殖抑制効果を認めた。以上の結果により、AdSOCS1は、JAK/STAT経路に加え、FAK/p44/42MAPK経路を阻害することで食道癌細胞株に対して増殖抑制効果を示す可能性が示唆された 食道癌細胞株(TE14)の皮下移植による異種移植マウスとヒト食道癌臨床検体を皮下移植したPDXマウスのモデルを作成し、それぞれAdSOCS1の治療効果について検討した。AdSOCS1は週2回計6回腫瘍に対し局所投与を行い、腫瘍体積及び腫瘍重量を測定した。いずれのモデルにおいてもAdSOCS1投与群は、AdLacZ投与群(コントロール群)と比較して有意な抗腫瘍効果を認めた。AdSOCS1投与群の治療後腫瘍は、STAT3のリン酸化の抑制及びFAK/p44/42MAPKのリン酸化の抑制を認め、 <i>in vitro</i> と同様の結果を得た。また、AdSOCS1投与群の治療後腫瘍ではKi-67の発現の低下、TUNEL染色によるアポトーシスへの誘導を確認した。	
〔総括(Conclusion)〕 食道癌に対する非増殖型アデノウイルスベクターを用いたSOCS1遺伝子治療は、既知のJAK/STAT経路に加えFAK/p44/42MAPK経路を阻害することによって、アポトーシスが強く誘導され、良好な抗腫瘍効果を得ることを明らかにした。さらに、前臨床治療モデルであるPDXマウスにおいてAdSOCS1は著明な治療効果を認めたため、SOCS1を用いた新規遺伝子治療は食道癌の治療の一つとして臨床応用が期待される。	