

Title	Copper ions are novel therapeutic agents for uterine leiomyosarcoma
Author(s)	角田, 守
Citation	大阪大学, 2020, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/76452
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

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏名 Name	角田 守
論文題名 Title	Copper ions are novel therapeutic agents for uterine leiomyosarcoma (銅イオンは子宮平滑筋肉腫の治療薬となりうる)
論文内容の要旨	
<p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>子宮平滑筋肉腫(以下、LMS)は再発、転移をきたしやすく極めて予後不良であるにもかかわらず、治療抵抗性の疾患である。そのため、効果的な化学療法の開発や、薬剤耐性のメカニズム解明は急務である。adenosine triphosphatase copper transporting beta (ATP7B)は銅のホメオスターシスに関連する銅の排出トランスポーターであるが、同時に強力なプラチナ排出トランスポーターとしても知られている。様々な癌種においてATP7Bはプラチナ耐性と関連しており、治療標的として期待されているが、ATP7Bを阻害する薬剤や方法はない。本研究はプラチナ耐性であるLMSに着目し、ATP7Bが果たす役割をin vitro及びin vivoにおいて検討し、ATP7BがLMSの治療標的となりうるかを検討した。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>複数の婦人科癌細胞株においてATP7Bの発現をWestern blotting法にて確認したところ、LMS細胞株であるSK-LMS-1細胞株において強発現を認めた。LMSの臨床検体14例に対して免疫組織学染色を行いATP7Bの発現を解析したところ、11例(78.6%)にATP7Bの発現を認めた。つづいて、SK-LMS-1細胞株に対しATP7B siRNAを遺伝子導入した細胞株(SK-LMS-si7B1, SK-LMS-si7B2)において、プラチナ感受性及び細胞内プラチナ蓄積量を検討した。Modified MTT assayを用いて様々な濃度のcisplatinを上記細胞株に対して72時間暴露した後にIC₅₀値(50%阻害濃度)を計測したところ、コントロール株のIC₅₀値は16.8 μMであったのに対し、SK-LMS-si7B1, -si7B2細胞株では4.3 μM, 4.4 μM (P<0.01)と有意に改善を認めた。同じ細胞株に対し、Cisplatinを1時間暴露した後にICP-MS法を用いて細胞内プラチナ蓄積量を計測したところ、コントロール株では0.9pg/cellであったのに対し、SK-LMS-si7B1, -si7B2細胞株においては6.9pg/cell, 6.3pg/cell (P<0.01)と有意な細胞内蓄積量の上昇を認めた。以上のことからSK-LMS細胞株において、ATP7Bをノックダウンすることでプラチナの排出が抑制され、細胞内のプラチナ蓄積量が上昇し、IC₅₀値が改善したと考えられた。</p> <p>次にin vivoにおいてもプラチナ感受性の評価を行うために、pRSベクターを用いてATP7BのshRNAをSK-LMS-1細胞株に遺伝子導入し恒常的にATP7Bをノックダウンした細胞株(SK-LMS-7B-21, 33)及びコントロール細胞株(SK-LMS-CV)を作成した。ICR nu/nu マウスにこれらの細胞株を皮下移植しcisplatin (3mg/kg)投与群とPBS投与群を比較し、腫瘍増殖抑制を比較したところ、SK-LMS-CV細胞(96.4%, P = 0.82)、SK-LMS-7B-21株(37.1%, P<0.01)、SK-LMS-7B-33株であり(25.9%, P<0.01)、ATP7Bノックダウン株においてプラチナ感受性の有意な改善を認めた。次に銅を前投与することでATP7Bの銅の輸送能を使用させた場合プラチナ排出量が低下する仮説をたて、この仮説の検証を行った。有意な細胞毒性を認めない15 μMのCuSO₄を、cisplatinに暴露する3時間前からあらかじめ暴露することによってどのようにIC₅₀値や細胞内プラチナ蓄積量が変化するか評価を行なった。プラチナ蓄積量は、cisplatin単独投与群では1.2pg/cellであるのに対して前投与を行なった群では9.1pg/cellと有意に上昇を認め、cisplatinのIC₅₀値は、cisplatin単独投与群では18 μMであるのに対して前投与を行なった群では3.95 μMと有意に改善を認めた。in vivoモデルにおいても、同様にCuSO₄(1mg/kg)を前投与することでコントロール群では(96.9%, P=0.90)の腫瘍増殖抑制であったのに対し、前投与群では(34.7%, P<0.01)であり、プラチナ感受性の改善を認めた。</p> <p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>本研究において、LMSはATP7Bを強発現しておりプラチナ耐性との関連性を認め、CuSO₄を前投与することでプラチナの排出が阻害されることを初めて同定した。また、銅イオンはATP7B陽性LMSの治療薬となりうることを示した。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 角田 守	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学教授 本村 正
	副 査 大阪大学教授 野々村 祝夫
	副 査 大阪大学教授 森 英一
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>子宮平滑筋肉腫は再発、転移をきたしやすく極めて予後不良であるにもかかわらず、治療抵抗性の疾患であり、効果的な化学療法の開発や、薬剤耐性のメカニズム解明は急務である。本研究は、子宮平滑筋肉腫がATP7Bを強発現しておりプラチナ耐性との関連性を認め、CuSO₄を前投与することでプラチナの排出が阻害されることを初めて同定した。これまで有効なATP7Bの阻害薬はなかったが、この方法を用いることでCuSO₄がATP7B陽性子宮平滑筋肉腫の治療薬となりうることを示した。この方法は今までに報告のないもので、他のATP7Bの発現のあるプラチナ抵抗性悪性腫瘍においても応用できる可能性がある。今後はCuSO₄の前投与方法の安全性を確認し、プラチナ製剤との同時投与による臨床応用が今後期待され、本研究は学位に値すると考える。</p>	