OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Propranolol suppresses gastric cancer cell growth by regulating proliferation and apoptosis
Author(s)	高, 正浩
Citation	大阪大学, 2021, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/85307
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	高　正浩
論文題名 Title	Propranolol suppresses gastric cancer cell growth by regulating proliferation and apoptosis（胃癌に対するPropranolol投与は細胞増殖制御とapoptosis誘導により抗腫瘍効果を示す）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

胃癌の治療成績は集学的治療により改善傾向にあるが、本邦における死亡率は依然として高く、新規治療法の開発が望まれている。近年、ストレスによる腫瘍増殖のメカニズムの一因として、βアドレナリン受容体 (β-AR)を介した経路が報告された。複数のサブタイプが存在するβ-ARの中でも、β1-ARまたはβ2-ARが腫瘍において高発現していることが示され、その機序に基づき、β-AR拮抗薬の抗腫瘍効果が注目されている。乳児血管腫では、β1, 2-AR拮抗薬であるPropranolol (Prop)の有効性が示され、すでに実臨床で使用されている。一方、胃癌をはじめとする消化器癌ではβ2-ARが高発現していることが報告されているが、β-AR拮抗薬の治療効果は明らかではない。本研究では、胃癌に対するPropの抗腫瘍効果とその作用メカニズムについて示し、また異種移植マウスを用いた前臨床モデルでPropの治療効果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)〕

①胃癌切除検体を用いたβ2-ARの発現と臨床病理学的特徴

当科で根治切除を施行した胃癌検体162例を用いてβ2-ARの免疫染色を行った。95例 (58.6%)でβ2-ARの高発現が認められ、β2-AR高発現群は低発現群と比較して無再発生存期間 (RFS)、全生存期間 (OS)が有意に短かった (Log rank P<0.01)。RFSについて多変量解析を行ったところ、β2-AR高発現はT因子・N因子とともにRFSの独立した予後因子であった。

②胃癌細胞株を用いたβ-ARの発現及びβ-AR作動薬/拮抗薬の細胞増殖への影響の検討

胃癌細胞株MKN45、NUGC3を用いてWestern blottingによりβ1-ARとβ2-ARの発現を確認した。これらの細胞株に対して、β-AR作動薬であるIsoproterenolを投与後にCell viability assayを行い、濃度依存的な細胞増殖を確認した。一方、Prop、Bisoprolol (β1-AR選択的拮抗薬)、ICI-118, 551 (β2-AR選択的拮抗薬)を用いたβ-AR拮抗薬の検討ではPropとICI-118, 551は濃度依存的に細胞増殖を抑制したが、Bisoprololは抑制を認めず、β2-ARの関与が示唆された。

③Propranololの細胞増殖抑制メカニズムの検討

β-ARのシグナル経路の下流であるMEK/ERK、CREB/ATF経路のリン酸化がPropにより抑制されていることをWestern blottingで示した。MKN45を用いたCell cycle assayでは、Prop 200μM投与によりG0/1期の細胞割合が61→77%に増加しており、G1 arrestを確認した。さらにApoptosis assayにおけるAnnexin-V陽性細胞割合の増加 (1.4→28.9%)、Western blottingでのCleaved PARP・Caspase3, 6の発現を認め、apoptosisの誘導を確認した。また、wound healing assayを用いた検討で、Propによる遊走能低下を認めた。

④動物モデルを用いたPropranololの抗腫瘍効果

胃癌細胞株MKN45の皮下移植により作成した異種移植マウスを用いて、治療群ではProp (20mg/kg, 40mg/kg)を、非治療群ではPBSを14日間連続で腹腔内投与し、3群間でPropの抗腫瘍効果について比較検討した。平均腫瘍体積は非治療群: 20mg/kg投与群: 40mg/kg投与群= 421.3: 227.7: 187.78 (mm^3)と、Prop投与により腫瘍増殖は有意に抑制されていた (p<0.01)。Ki-67・TUNEL染色を行い、治療群の腫瘍におけるKi-67発現低下 (Ki-67 index 非治療群: 20mg/kg投与群: 40mg/kg投与群= 73.2: 56.4: 46.8 (%))、TUNEL陽性細胞増加を認め、Prop投与による細胞増殖抑制・apoptosis誘導を確認した。

〔総　括(Conclusion)〕

胃癌細胞株に対するPropranolol投与は、MEK-ERK、CREB-ATF経路のリン酸化抑制を介して、細胞周期の制御、apoptosis誘導により抗腫瘍効果を示した。また異種移植マウスモデルにおいても抗腫瘍効果が確認された。Propranololは胃癌に対する新規治療薬として、臨床応用が期待される。

[Format-H07]

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　高　正浩

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	新谷康
	副　査	大阪大学教授	金井好克

論文審査の結果の要旨

近年、複数の癌種でβアドレナリン受容体 (β-AR)が腫瘍増殖に関与していることが示されており、β-AR拮抗薬の抗腫瘍効果が注目されている。本研究は、β-AR拮抗薬であるPropranolol (Prop)の胃癌に対する抗腫瘍効果とその作用メカニズムについて示すものである。胃癌切除検体を用いた免疫染色では、95/162例 (58.6%)でβ2-ARの高発現を認め、高発現群では無再発生存期間・全生存期間が有意に短かった。胃癌細胞株MKN45、NUGC3においてβ1-ARとβ2-ARの発現を確認し、Prop投与により細胞増殖は濃度依存的に抑制された。またPropはMEK/ERK、CREB/ATF経路のリン酸化を抑制し、細胞周期のG1 arrest、apoptosis誘導を確認した。胃癌細胞株MKN45の異種移植マウスにおいても、Prop投与により腫瘍増殖は有意に抑制されていた。本研究の結果は、Propの胃癌に対する新規治療薬としての可能性について示唆するものであり、学位の授与に値すると考えられた。