

氏 名	原 健二郎
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	第5749号
学位授与年月日	平成24年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当者
学位論文名	Mitochondria Determine the Efficacy of Anticancer Agents that Interact with DNA but not the Cytoskeleton (DNA作用型抗がん剤の効果はミトコンドリアにより決定される)
論文審査委員	主査 北川 誠一 教授 副査 日野 雅之 教授 副査 平川 弘聖 教授

論文内容の要旨

【目的】

化学療法はがん治療において重要な役割を果たしているが、抗がん剤に対する耐性や副作用が大きな問題となっている。これまでに我々は、シスプラチンの殺細胞作用が細胞のミトコンドリア密度と正の相関を示す可能性を示唆してきた。本研究では、ミトコンドリアを欠損させた中皮腫細胞 (ρ^0 細胞) およびミトコンドリア量の異なるいくつかのがん細胞を用い、DNAに作用する抗がん剤への抵抗性機構とミトコンドリア代謝の分子特性を動力学的に解析し、より有効で安全な化学療法のあり方を提唱することを目的とした。

【方法及び結果】

DNA作用型抗がん剤は、中皮腫細胞株 H2052 の活性酸素産生を増強させ（フローサイトメトリーで解析）、細胞質への Cytochrome C の放出及びカスパーゼ 9 と 3 を活性化（Western blot 法で解析）して細胞死を誘導する。しかし、ミトコンドリアを消去した ρ^0 細胞はこれらの現象に対して強い耐性を示した。DNA作用型抗がん剤に対する感受性は、がん細胞のミトコンドリア量と正の相関を示した。一方、細胞骨格作用型抗がん剤は、H2052 とその ρ^0 細胞に対してミトコンドリア非依存性にカスパーゼ 8 と 3 を活性化して細胞死を誘導した。また、細胞骨格作用型抗がん剤に対する感受性は、がん細胞のミトコンドリア量とは相関しなかった。

【結論】

DNA作用型の抗がん剤はがん細胞に対して活性酸素依存性の細胞死を誘導するが、細胞骨格作用型の抗がん剤は活性酸素やミトコンドリアに依存しない細胞死を誘導することが明らかとなった。本研究の知見は、がん細胞のミトコンドリア特性を知ることによりがん患者ごとに有効な抗がん剤を選択するための重要な指標となる。

論文審査の結果の要旨

化学療法はがん治療において重要な役割を果たしている。しかし、抗がん剤に対する耐性や副作用が大きな問題となっている。不必要な副作用を避けるためには、がん細胞の生物特性を知ることが重要である。細胞のミトコンドリアが多くなると cisplatin に対する感受性が高くなることが知られている。本研究では、野生型およびミトコンドリアを欠損した (ρ^0 細胞) 中皮腫細胞株 H2052 細胞を用いて、抗がん剤の殺細胞作用におけるミトコンドリアの役割を明らかにすることを目的とした。

ミトコンドリア DNA を欠損した ρ^0 細胞は野生型 H2052 細胞を ethidium bromide 存在下に長期間培

養することによって樹立した。死細胞はトリパンブルー染色、細胞内活性酸素産生およびミトコンドリアはフローサイトメーター、細胞内タンパク質はウエスタンブロット法を用いて解析した。

DNA に作用する抗がん剤 (cisplatin、bleomycin、doxorubicin、methotrexate、busulfan および fluorouracil) は、細胞内活性酸素産生の増強、cytochrome C の細胞質内への放出、カスパーゼ 9 およびカスパーゼ 3 の活性化を介して野生型 H2052 細胞の細胞死を誘導した。p⁰ 細胞はこれらの応答に強い抵抗性を示した。一方、細胞骨格に作用する抗がん剤 (paclitaxel、colchicine および vinblastine) は、ミトコンドリア非依存性にカスパーゼ 8 およびカスパーゼ 3 の活性化を介して野生型 H2052 細胞および p⁰ 細胞の細胞死を誘導した。さまざまながん細胞株を用いて解析すると、DNA 作用型抗がん剤に対する感受性は、がん細胞に含まれるミトコンドリアの量と正の相関を示した。一方、細胞骨格作用型抗がん剤に対する感受性は、がん細胞に含まれるミトコンドリアの量とは無関係だった。これらの結果は、DNA 作用型抗がん剤の殺細胞効果がん細胞に含まれるミトコンドリアの量によって規定されることを示している。

本研究は、がん細胞に含まれるミトコンドリアの量とさまざまな抗がん剤に対する感受性との関連を明らかにしており、化学療法におけるその医学的意義は大きい。よって、本研究者は博士 (医学) の学位を授与されるに値するものと判断された。