

論 文 内 容 要 旨

題目 Cytotoxic effects of 15-deoxy- $\Delta$ 12, 14-prostaglandin J2 alone and in combination with dasatinib against uterine sarcoma in vitro

(15-deoxy- $\Delta$ 12, 14-prostaglandin J2 の単剤とダサチニブの併用療法は子宮肉腫の増殖を抑制する)

著者 Takako Kawakita, Masato Nishimura, Eri Takiguchi, Akiko Abe, Minoru Irahara  
平成 29 年発行 Experimental and Therapeutic Medicine に掲載予定

内容要旨

子宮肉腫は予後不良な疾患である。外科的切除が第一選択であるが、切除不能例や再発例に対する有効な化学療法や追加治療については未だ確立されていない。Prostaglandin J2 (PGJ2) は peroxisome proliferator receptor  $\gamma$  agonist 作用を持ち、腫瘍細胞やウイルスに対する強力な増殖抑制作用が明らかにされるとともに、平滑筋細胞の増殖抑制および分化誘導作用が報告されている。そこで今回我々は、子宮肉腫に有効な化学療法を確立する一環として、PGJ2 の抗腫瘍効果と平滑筋細胞増殖抑制作用に着目し、子宮肉腫培養細胞に対する増殖抑制効果とその作用機序を検討した。

3 種類の子宮肉腫培養細胞 (MES-SA、MES-SA/DX5、SKN) の培養系に PGJ2 を添加し、細胞増殖抑制効果について WST-1 アッセイを用いて検討した。また、PGJ2 の作用機序を調べるため、アポトーシスの有無についてはアポトーシス関連因子であるカスパーゼ 3/7 活性を調べるとともに、TUNEL 法にてアポトーシス細胞を検討した。さらに、western blot 法を用いて、情報伝達系の AKT 経路の指標である pAKT、および Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK) 経路の指標である pMEK と pERK の変化を測定した。次に、PGJ2 に tyrosine kinase inhibitor である dasatinib を併用する相乗効果を検討するため、PGJ2 と dasatinib の併用群と PGJ2 単独群との子宮肉腫培養細胞抑制効果を比較し、combination index (CI) を調べた。

得られた結果は以下の通りである。

1) PGJ2 を 10 $\mu$ M 以上で 24 時間添加した場合、MES-SA 細胞では 21.5 $\pm$

様式 (8)

- 12.0%、MES-SA/DX5 細胞では  $35.3 \pm 5.4\%$ 、SKN 細胞では  $28.3 \pm 4.2\%$  のいずれも有意な子宮肉腫培養細胞増殖抑制効果を認めた。
- 2) PGJ2 の添加群では対照と比較して PGJ2 の濃度依存的にカスパーゼ 3/7 活性の増加を認め、アポトーシス細胞の増加を認めた。
  - 2) PGJ2 の添加で p AKT の減少を認めたが、p MEK、p ERK は逆に増加していた。
  - 4) PGJ2 と dasatinib 併用群では、細胞増殖抑制効果が MES-SA 細胞  $64.2 \pm 0.8\%$ 、MES-SA/DX5 細胞は  $23.9 \pm 8.2\%$ 、SKN 細胞は  $41.4 \pm 17.6\%$  といずれも PGJ2 単独群と比較して増強しており、併用療法では  $CI < 1$  と相乗効果であることが確認された。
  - 5) 併用群では、p AKT、p MEK、p ERK がいずれも抑制されていた。

以上の結果より、PGJ2 は子宮肉腫細胞に対し、(1) 単独で細胞増殖抑制効果があること、(2) 作用機序としては AKT 経路のリン酸化抑制が考えられること、(3) PGJ2 に dasatinib を併用すると相乗効果を認め、その機序として AKT 経路に加えて MAPK 経路の抑制が関与すること、が明らかとなった。これらの研究成績は、PGJ2 単独および PGJ2 と分子標的薬併用療法が子宮肉腫の新たな治療戦略の一つになる可能性を示唆すると考えられた。

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 <b>1325</b> 号	氏名	河北 貴子
審査委員	主査 丹黒 章 副査 高山 哲治 副査 常山 幸一		

題目 Cytotoxic effects of 15-deoxy- $\Delta$ 12,14-prostaglandin J2 alone and in combination with dasatinib against uterine sarcoma in vitro  
 (15-deoxy- $\Delta$ 12,14-prostaglandin J2 の単剤とダサチニブの併用療法は子宮肉腫の増殖を抑制する)

著者 Takako Kawakita, Masato Nishimura, Eri Takiguchi, Akiko Abe, Minoru Irahara  
 平成29年発行 Experimental and Therapeutic Medicine に掲載予定  
 (主任教授 苛原 稔)

要旨 子宮肉腫は予後不良な疾患である。外科的切除が第一選択であるが、切除不能な場合や再発時の有効な化学療法や追加治療については未だ確立されていない。Prostaglandin J2 (PGJ2) は、腫瘍細胞やウイルスに対する強力な増殖抑制作用、平滑筋細胞の増殖抑制および分化誘導作用が報告されている。そこで申請者らは、子宮肉腫に有効な化学療法を確立する一環として、PGJ2 の抗腫瘍効果と平滑筋細胞増殖抑制作用に着目し、子宮肉腫培養細胞に対する増殖抑制効果とその作用機序を検討した。

3種類の子宮肉腫培養細胞 (MES-SA、MES-SA/DX5、SKN) に PGJ2 を添加し、WST-1 アッセイを用いて細胞増殖抑制効果を検討した。アポトーシス関連因子であるカスパーゼ 3/7 活性を調べるとともに、TUNEL 法にてアポトーシス細胞を検討した。さらに

Western blot 法を用いて、情報伝達系の AKT 経路および MAPK 経路の指標である p AKT、p MEK、p ERK の変化を調べ、作用機序について検討した。次に、PGJ2 に tyrosine kinase inhibitor である dasatinib を同時添加し、combination index (CI) を調べて相乗効果を検討し、以下の結果を得ている。

1. いずれの細胞においても PGJ2 を 10  $\mu$ M 以上で 24 時間添加した場合、対照と比較して有意に子宮肉腫培養細胞の増殖が抑制された。
2. PGJ2 の添加により濃度依存的にカスパーゼ 3/7 活性の亢進を認め、アポトーシス細胞の増加を認めた。
3. PGJ2 の添加により p AKT の低下を認めた。
4. PGJ2 に dasatinib を併用すると細胞増殖抑制効果が有意に増強しており、併用療法では  $CI < 1$  と相乗効果が確認された。
5. 併用群では、p AKT、p MEK、p ERK がいずれも抑制されていた。

以上の結果から、PGJ2 は子宮肉腫細胞の増殖抑制効果を有し、その作用機序として AKT 経路の抑制が考えられること、dasatinib との併用療法により細胞増殖抑制に相乗効果があることを明らかにした。

本研究成果は、PGJ2 を用いた化学療法が子宮肉腫の新たな治療戦略の一つになる可能性を示した点で有意義であり、婦人科臨床腫瘍学に寄与すること大であると考えられ、学位授与に値すると判断した。