

論 文 内 容 要 旨

題目 Resveratrol suppresses proliferation and induces apoptosis of uterine sarcoma cells by inhibiting the Wnt signaling pathway

(レスベラトロールは子宮肉腫細胞において、wnt シグナルを抑制することによりアポトーシスを誘導し、細胞増殖を抑制する)

著者 Ayuka Mineda, Masato Nishimura, Tomohiro Kagawa, Eri Takiguchi, Takako Kawakita, Akiko Abe, Minoru Irahara

平成 31 年発行 Experimental and Therapeutic Medicine に掲載予定

内容要旨

子宮肉腫は子宮悪性腫瘍の 1~3%と稀な腫瘍である。最も有効な治療法は手術での完全切除であるが、切除可能な I 期でも術後に再発をきたすことが少なくない。II 期以上の 5 年生存率は 0~10%と予後不良であり、手術以外に有効な化学療法などの治療は確立されていない。最近軟部腫瘍に適応のある薬剤が承認されたが、その効果は限定的である。我々は PPAR γ のリガンドであるプロスタグランジン J2 (PGJ2) が子宮肉腫細胞に対して増殖抑制効果があることを報告した。赤ワインに多く含まれるレスベラトロールは、PGJ2 同様に PPAR γ アゴニストとして作用することが知られており、様々なシグナル伝達系を調節することで抗癌作用を示すことが報告されている。癌以外でも、骨肉腫において細胞増殖抑制効果が報告されている。またその作用機序は wnt シグナルを介していることが示されている。そこで申請者らは、子宮肉腫細胞株におけるレスベラトロールの細胞増殖抑制効果とその作用機序について検討した。

まず、ヒト子宮肉腫由来の MES-SA cell line を使用し、肉腫培養細胞に対するレスベラトールの作用を検討するため、96well マイクロプレートに 2.0×10^3 cells /well で播種し、24 時間培養した。レスベラトールを 10、20、40 μ g/ml の濃度で添加し 24、48、72 時間毎に WST-1 アッセイ法を用いて検討した。次に、レスベラトールを 10、20、40 μ g/ml の濃度で添加し、72 時間培養した細胞について、AnnexinV/FITC kit を用いてフローサイトメーターで測定し、アポトーシス細胞の有無を検討した。さらに、レスベラトールの作用機序に関して検討するため、wnt シグナルのうちの β カテニンと、その関連遺伝子の c-myc の発現について western blotting を用いて検討した。得られた結果は以下の通りである。

様式(8)

- 1) レスベラトールの濃度依存性に細胞増殖が抑制された。20 μ g/ml 以上、24 時間以上で有意に細胞増殖抑制効果を認めた。(P<0.05)
- 2) アポトーシスの検討では、レスベラトールの濃度依存性にアポトーシス細胞が増加しており、その割合は 40 μ g/ml で 43%であった。
- 3) wnt シグナルのうちの β カテニンと、その関連遺伝子の c-myc について western blotting を用いて検討した結果、濃度依存性に β カテニン、c-myc ともに抑制されていた。
- 4) レスベラトロールと GSK3 β 阻害剤を同時に投与すると、 β カテニン、c-myc の発現が抑制されていた

以上の結果より、子宮肉腫細胞に対してレスベラトロールは細胞増殖抑制作用があることが明らかとなった。また、レスベラトロールの作用機序は wnt シグナルのうちの β カテニン経路を介していることが示された。これにより、レスベラトロールは子宮肉腫への新たな治療薬となる可能性が示された。

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 1403 号	氏名	峯田あゆか
審査委員	主査 高山 哲治 副査 丹黒 章 副査 石澤 啓介		

題目 Resveratrol suppresses proliferation and induces apoptosis of uterine sarcoma cells by inhibiting the Wnt signaling pathway (レスベラトロールは Wnt シグナルを抑制することによりアポトーシスを誘導し、細胞増殖を抑制する)

著者 Ayuka Mineda, Masato Nishimura, Tomohiro Kagawa, Eri Takiguchi, Takako Kawakita, Akiko Abe, Minoru Irahara
平成 31 年発行 Experimental and Therapeutic Medicine に掲載予定

(主任教授 苛原 稔)

要旨 子宮肉腫は子宮悪性腫瘍の 1~3% と稀な腫瘍である。最も有効な治療法は手術での完全切除であるが、再発例が多く、II 期以上の 5 年生存率は 0~10% と予後不良であり、手術以外の有効な治療法はまだ確立されていない。

すでに申請者らは、peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) のリガンドであるプロスタグランジン J2 (PGJ2) が子宮肉腫細胞に対して増殖抑制効果があることを報告しているが、赤ワインに多く含まれるレスベラトロールは PGJ2 と同様に PPAR γ アゴニストとして作用することが知られており、様々なシグナル伝達系を調節することで抗腫瘍作用を示すことが報告されている。

そこで申請者らは、子宮肉腫の新しい治療法を開発する一環として、子宮肉腫細胞に対するレスベラトロールの増殖抑制効果の有無とその作用機序について検討した。

実験にはヒト子宮肉腫由来 MES-SA cell line を用いた。まず、

レスベラトロールの細胞増殖抑制効果を調べるため、10、20、40 $\mu\text{g/ml}$ の濃度で細胞培養系に添加し、24、48、72 時間後に WST-1 法を用いて検討した。また、アポトーシスの検討は Annexin V/FITC kit を用いてフローサイトメーターで調べた。さらに、レスベラトロールの作用機序を調べるため、Wnt シグナル系の β カテニンとその関連遺伝子 c-myc の発現を western blotting 法を用いて検討した。

得られた結果は以下の通りである。

1. レスベラトロールを 20 $\mu\text{g/ml}$ 以上添加すると、24 時間以上で子宮肉腫細胞の増殖抑制効果を認めた。
2. レスベラトロールの濃度依存性にアポトーシス細胞の増加を認めた。
3. Western blotting の結果では、 β カテニン、c-myc のいずれもレスベラトロールの濃度依存性に発現が低下した。一方、GSK3 β 阻害剤を加えるとその低下が抑制された。

以上より、申請者らは子宮肉腫細胞に対してレスベラトロールが細胞増殖抑制作用を持つことを初めて明らかにし、レスベラトロールが子宮肉腫への新たな治療薬となる可能性を示した。また、レスベラトロールの作用機序は Wnt シグナルの β カテニン経路を介していることを明らかにした。

本研究成果は、子宮肉腫に対する新しい化学療法の可能性を示した点で有意義であり、婦人科腫瘍学に寄与すること大であり、学位授与に値すると判定した。