

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)	氏名	斧山 美恵子
学位授与の要件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論 文 題 目 Combining molecular targeted drugs to inhibit both cancer cells and activated stromal cells in gastric cancer. (分子標的薬の併用による胃癌・間質相互作用の抑制)			
論文審査担当者 主 査 教 授 安 井 弥 印 審査委員 教 授 檜 山 英 三 審査委員 准教授 大 上 直 秀			
〔論文審査の要旨〕 腫瘍の増殖・進展・転移は癌細胞のみならず、腫瘍周囲の環境を構築する間質細胞によって大きく影響されることが知られている。申請者の研究室ではこれまでに、胃癌と大腸癌において、腫瘍細胞が platelet-derived growth factor (PDGF)-B を産生し、間質に存在する癌関連線維芽細胞 (carcinoma-associated fibroblast (CAF))、ペリサイト、リンパ管内皮細胞が PDGF receptor (PDGF-R) β を過剰発現していることを見出した。 また、分子標的薬である PDGF-R チロシンキナーゼ阻害剤 (以下、PDGF-R 阻害剤)、imatinib が間質反応やリンパ管新生の抑制、ペリサイトの減少をきたし、抗癌剤による抗腫瘍効果を増強させることを報告した。一方、Rapamycin 誘導体の everolimus は経口投与可能な mTOR (mammalian target of rapamycin) 阻害剤であり、腫瘍細胞内の PI3K /AKT /mTOR 系シグナル伝達を抑制し、癌細胞の増殖抑制、アポトーシスの促進を誘導する。さらには、hypoxia inducible factor (HIF)-1 /vascular endothelial growth factor (VEGF) 系の阻害による血管新生抑制作用も有する。すなわち、mTOR 阻害剤は癌細胞と血管内皮細胞を、PDGF-R 阻害剤は CAF、ペリサイト、リンパ管内皮細胞を標的として作用することが期待される。本研究では、PDGF-R 阻害剤と mTOR 阻害剤の併用による胃癌への相乗効果を期待して、以下の手順で検討を行った。 まず、胃癌臨床材料 29 例を用いて PDGF /PDGF-R 系の発現と腫瘍間質との関連について検討した。PDGF-B /PDGF-R β の発現を real time PCR で定量化し、その発現量と、alpha smooth muscle (α SMA) を用いて間質量および type I collagen を用いて細胞外基質を免疫組織学的に定量化し、それぞれとの関係を検討した。			

また、PDGF-B 発現量の多い胃癌細胞株 TMK-1 および MKN-1 のヌードマウス胃壁同所移植腫瘍と、PDGF-B 発現の少ない胃癌細胞株 KKLS の同所移植腫瘍について、 α SMA を用いて間質量を、type I collagen を用いて細胞外基質を免疫組織学的に定量化し、PDGF/PDGF-R 系との関係について検討した。さらに、胃癌における mTOR 経路の活性化を調べるために、胃癌臨床材料および TMK-1 同所移植腫瘍を用いて、mTOR の下流蛋白である S6 ribosomal protein (S6RP) のリン酸化 (p-S6RP) を免疫組織学的に検討した。

次に、胃癌細胞株のヌードマウス胃壁同所移植モデルを用いて以下の 2 通りの治療実験を行なった。1) 豊富な間質を形成する TMK-1 および MKN-1 の同所移植腫瘍について、2 種類の PDGF-R 阻害剤 (imatinib, nilotinib) の間質およびリンパ管に対する効果について検討した。2) 豊富な間質を形成しかつ腫瘍形成能の高い TMK-1 の同所移植腫瘍に対して、PDGF-R 阻害剤 (nilotinib) と mTOR 阻害剤 (everolimus) の単剤ならびに併用投与後の治療効果 (腫瘍増殖やリンパ節転移) について検討した。また、その機序に関する分子病理学的解析として、摘出した腫瘍に対して、腫瘍増殖 (Ki67-labeling index)、アポトーシス (TUNEL assay)、腫瘍間質 (α SMA) や血管 (CD31)・リンパ管 (Lyve-1)・ペリサイト (desmin) を免疫組織学的に検討し評価した。

胃癌臨床検体組織と胃癌同所移植腫瘍いずれにおいても、PDGF-B と PDGF-R β の発現レベルは、腫瘍組織内の間質量や細胞外基質量と相関していた。また、胃癌臨床検体組織および胃癌同所移植腫瘍いずれにおいても、癌細胞の細胞質にリン酸化 S6RP (p-S6RP) の発現が見られ mTOR 経路が活性化していると考えられた。

ヌードマウスを用いた治療実験では、PDGF-R 阻害剤単剤では腫瘍の増殖抑制作用は認められなかったが、間質反応、リンパ管面積、リンパ管侵襲を抑制した。一方、mTOR 阻害剤単剤治療では腫瘍増殖の抑制と微小血管面積の縮小・血管数の減少がみられたが、間質反応やリンパ管侵襲の抑制は見られなかった。mTOR 阻害剤治療群で、アポトーシスの増加がみられた。PDGF-R 阻害剤と mTOR 阻害剤の併用療法では、腫瘍増殖と間質反応の両者を阻害し、リンパ節転移を完全に抑制した。また、PDGF-R 阻害剤、mTOR 阻害剤それぞれの標的蛋白あるいは下流蛋白であるリン酸化 PDGF-R β (p-PDGF-R β)、p-S6RP、VEGF-A の発現はそれぞれの薬剤投与群で抑制されていた。

これらのことから胃癌において、癌組織構成細胞を広く同時に抑制する目的で分子標的薬を併用することは効果的な治療法となりうることが示された。

以上の結果から、本論文は胃癌と間質の双方を標的とした治療の有効性を明らかにした点で高く評価される。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。