

(様式3号)

学位論文の要旨

氏名 河村 大智

〔題名〕

ヒト膵癌細胞におけるDclk1阻害によるChk1リン酸化の抑制を介したゲムシタピンの細胞傷害性効果の増強

〔要旨〕

膵癌の治療において、ゲムシタピン(GEM)はよく用いられるが、その効果は限定的である。GEMの癌抑制効果を増強させるため、標的分子の同定が必要とされている。最近の研究により、doublecortin-like kinase 1 (Dclk1)は膵癌細胞において腫瘍増殖、浸潤、転移、そして上皮間葉移行、多分化能、血管新生、抗アポトーシス関連因子を正に制御していることが明らかになった。それゆえ、Dclk1は膵癌に対する治療標的候補分子と考えられているが、Dclk1のシグナル伝達経路は、その基質蛋白質を含めて明らかになっていない。Dclk1によってリン酸化される基質候補蛋白質を同定するため、Dclk1をDclk1阻害薬であるLRRK2-IN-1(LRRK)によって阻害した膵癌細胞株MIA Paca2を用いて、癌関連リン酸化蛋白質がプロットされているprotein microarray解析を行ったところ、ATRシグナル伝達経路に属するリン酸化cdc25Aおよびリン酸化Chk1の発現レベル減少が認められた。この結果から、Dclk1はATRシグナル伝達経路に関与していることが示唆された。この結果に一致して、GEM誘導性のp-Chk1の発現がLRRKによって有意に減少した。GEM単剤では細胞周期がS期で停止したが、GEMとLRRKの併用では細胞周期はS期で停止せず進行していた。加えて、GEMとLRRKの併用はGEMまたはLRRK単剤に比べて γ -H2AX陽性細胞数を増加させた。さらに、LRRK単剤、GEMとLRRKの併用はGEM単剤に比べて、caspase-3の活性化とPARP1の切断を誘導し、GEMとLRRKの併用はGEM単剤に比べて有意に細胞生存率を減少させた。これらの結果は、Dclk1阻害とGEMとの併用は膵癌細胞の新規治療法となり得ることを示している。

学位論文審査の結果の要旨

医学系研究科応用医工学系 (医学系)

報告番号	甲 第 1513 号	氏 名	河村 大智
論文審査担当者	主査教授	永野 浩昭	
	副査教授	伊藤 浩史	
	副査教授	濱野 公一	
学位論文題目名 (題目名が英文の場合は、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。) ヒト膵癌細胞における Dcl1k1 阻害による Chk1 リン酸化の抑制を介したゲムシタビンの細胞傷害性効果の増強			
学位論文の関連論文題目名 (題目名が英文の場合は、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。) Enhancement of cytotoxic effects of gemcitabine by Dcl1k1 inhibition through suppression of Chk1 phosphorylation in human pancreatic cancer cells (ヒト膵癌細胞における Dcl1k1 阻害による Chk1 リン酸化の抑制を介したゲムシタビンの細胞傷害性効果の増強) 掲載雑誌名 Oncology Reports 第 38 巻 第 5 号 P. 3238 ~ 3244 (2017 年 11 月 掲載 ・掲載予定)			
(論文審査の要旨) 膵癌の治療において、ゲムシタビン(GEM)はよく用いられるが、その効果は限定的である。GEM の癌抑制効果を増強させるため、標的分子の同定が必要とされている。最近の研究により、doublecortin-like kinase 1 (Dcl1k1)は膵癌細胞において腫瘍増殖、浸潤、転移、そして上皮間葉移行、多分化能、血管新生、抗アポトーシス関連因子を正に制御していることが明らかになった。それゆえ、Dcl1k1 は膵癌に対する治療標的候補分子と考えられているが、Dcl1k1 のシグナル伝達経路は、その基質蛋白質を含めて明らかになっていない。Dcl1k1 によってリン酸化される基質候補蛋白質を同定するため、Dcl1k1 を Dcl1k1 阻害薬である LRRK2-IN-1 (LRRK) によって阻害した膵癌細胞株 MIA Paca2 を用いて、癌関連リン酸化蛋白質がプロットされている protein microarray 解析を行ったところ、ATR シグナル伝達経路に属するリン酸化 cdc25A およびリン酸化 Chk1 の発現レベル減少が認められた。この結果から、Dcl1k1 は ATR シグナル伝達経路に関与していることが示唆された。この結果に一致して、GEM 誘導性の p-Chk1 の発現が LRRK によって有意に減少した。GEM 単剤では細胞周期が S 期で停止したが、GEM と LRRK の併用では細胞周期は S 期で停止せず進行していた。加えて、GEM と LRRK の併用は GEM または LRRK 単剤に比べて γ -H2AX 陽性細胞数を増加させた。さらに、LRRK 単剤、GEM と LRRK の併用は GEM 単剤に比べて、caspase-3 の活性化と PARP1 の切断を誘導し、GEM と LRRK の併用は GEM 単剤に比べて有意に細胞生存率を減少させた。これらの結果は、Dcl1k1 阻害と GEM との併用は膵癌細胞の新規治療法となり得ることを示している。 本研究は、膵癌細胞に対して GEM に Dcl1k1 阻害薬を併用することで、リン酸化 Chk1 の抑制を介して、細胞生存率を減少させることを明らかにした論文である。よって、学位論文として価値あるものであると認められた。			

備考 審査の要旨は800字以内とすること。