

論文内容の要旨

報告番号		氏名	重富 洋志
<p>Inhibition of Cell Death and Induction of G2 Arrest Accumulation in Human Ovarian Clear Cells by HNF-1beta Transcription Factor. Chemosensitivity Is Regulated by Checkpoint Kinase CHK1</p> <p>(和訳) 卵巣明細胞腺癌における転写因子HNF-1betaはDNA損傷チェックポイント機構の一つであるCHK1タンパクを制御し、抗癌剤耐性を獲得する</p>			

論文内容の要旨

卵巣明細胞腺癌は、60%は I、II 期の早期癌であるにも関わらずシスプラチンなどの白金製剤を中心とした化学療法に低感受性で、残存・再発病変のコントロールは極めて難しく、患者の予後や QOL を損なう場合が多い。このため明細胞腺癌の抗癌剤耐性獲得機構を解明して新たな治療戦略を構築することは、今後の治療成績を向上させるためには喫緊の課題である。

子宮内膜症性嚢胞内では繰り返す出血により産生される Free iron によって持続的に酸化ストレスが生じている。酸化ストレスは、炎症反応、細胞毒性、組織障害、DNA 損傷を引き起こし、発癌にも関与する。子宮内膜症性嚢胞からの卵巣明細胞腺癌への発癌モデルとして酸化ストレスによる DNA 損傷が関与している可能性がある。近年、明細胞腺癌に転写因子である HNF-1beta が特異的に過剰発現していることが報告された。またこの HNF-1beta は子宮内膜症性嚢胞においても発現を認めている。HNF-1beta が子宮内膜症性嚢胞から明細胞腺癌への癌化に対して影響を及ぼしていると考えられる。

HNF-1beta の有無による DNA 損傷に対する反応性の違いを調べ、明細胞腺癌における HNF-1beta の機能を明らかにすることとした。卵巣明細胞腺癌株である TUOC1 にプラスミドを導入し HNF-1beta を安定的にノックダウンした細胞株を得た。この細胞株に、抗癌剤 (Cisplatin、Bleomycin、Nocodazol) を添加し DNA 損傷と細胞周期の変化を調べ、また DNA 損傷チェックポイント機構への影響を検討した。Cisplatin、Nocodazol の投与では HNF-1beta 有無により細胞周期の変化に差を認めなかった。Bleomycin 添加では HNF-1beta(+)群では、継時的に G2/M 期の細胞集団が増加して G2/M arrest を引き起こしているのが明らかとなった。一方、HNF-1beta(-)群では、Bleomycin の添加により 12h 後までは G2/M 期の細胞数が増加するが、24h 後では HNF-1beta(+)群と比べて G2/M 期細胞の割合が減少し死細胞の増加を認めた。これは G2 チェックポイント機構の異常が示唆された。G2/M 期のチェックポイントに関与するタンパクの一つとして chk1 がある。DNA の損傷はセンサーである ATM/ATR で感知され、これらのタンパクは chk1 タンパクのリン酸化を引き起こすことにより cell cycle を止めるようにシグナルが伝達される。chk1 の自己リン酸化部位である S296 のリン酸化をウエスタンブロット法にて Bleomycin 添加からの時間経過で観察した。Bleomycin 添加により HNF-1beta(+)群では時間経過とともに chk1 タンパクのリン酸化の蓄積を認めた。一方、HNF-1beta(-)群では添加後 6h でピークとなりその後はリン酸化タンパクが減少する傾向を示した。HNF-1beta が chk1 のリン酸化を持続させることにより持続的な G2/M arrest を引き起こしている可能性が考えられた。近年、分子標的薬である chk1 inhibitor が臨床応用にむけて研究されている。Bleomycin 添加後に chk1 inhibitor を追加したところ G2 チェックポイントが解除され死細胞の増加を認めた。

本研究により HNF-1beta が過剰発現している卵巣明細胞腺癌では DNA 損傷のチェックポイント機構に異常をきたしていることが明らかとなった。チェックポイントタンパクに対する inhibitor の併用など新たな治療戦略の構築につながる可能性が示唆された。