

論文内容の要旨

氏名	岡本 渉
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	医第1058号
学位授与の日付	平成23年3月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Identification of c-Src as a Potential Therapeutic Target for Gastric Cancer and of MET Activation as a Cause of Resistance to c-Src Inhibition (胃癌細胞株における c-Src 阻害による効果)
論文審査委員 (主査)	教授 中川 和彦
(副主査)	教授 奥野 清隆
(副主査)	教授 宮澤 正顯

<p><b>【目的】</b> c-Src は、癌の増殖や生存、進展に関わるチロシンキナーゼであり、c-Src を標的とする治療戦略は多くの癌腫で有望視されている。ダサチニブは、BCR-ABL 阻害剤として慢性骨髄性白血病に臨床応用されているが、c-Src 阻害活性も有していることから c-Src 阻害剤としても臨床開発がすすめられている。本研究では、ダサチニブおよび c-Src に対する RNA 干渉 (siRNA) を用いて c-Src の抑制が胃癌細胞株の増殖や生存に及ぼす影響を検討し、さらに、ダサチニブの耐性機構についても検討を行った。</p> <p><b>【方法】</b> ダサチニブや siRNA による c-Src の抑制が細胞内シグナルに与える影響を Westernblot 法で、細胞周期やアポトーシスに与える影響をフローサイトメトリー法で検討した。</p> <p><b>【結果】</b> 胃癌細胞株の大半で c-Src の活性化がみられた。c-Src が活性化している胃癌細胞株の一部はダサチニブによる増殖抑制効果を認め、細胞外シグナル調節キナーゼ (ERK) のリン酸化が抑制され G1 期停止が誘導されるか、ERK と AKT のリン酸化がともに抑制されアポトーシス誘導されるかの、いずれかが起こっていた。siRNA により c-Src 発現を特異的に抑制するとダサチニブと同様の効果が得られたことから、ダサチニブによる胃癌細胞株の増殖抑制効果は c-Src の抑制に起因していることが示された。一方、c-Src が活性化しているでも MET が活性化している胃癌細胞株はダサチニブに耐性であり、ダサチニブによって ERK と AKT のリン酸化は抑制されず、G1 期停止やアポトーシスの誘導もみられなかった。これら MET の活性化を有するダサチニブ耐性胃癌細胞株の大部分は MET 遺伝子増幅を有しており、MET 阻害剤に対して高い感受性を示した。</p> <p><b>【考察】</b> 胃癌組織において c-Src キナーゼ活性が上昇しているとの報告はあるが、c-Src を胃癌の治療標的として検討した報告は過去にない。今回の研究で、ダサチニブは c-Src 活性の抑制により胃癌細胞株の増殖、生存を抑制するが、MET が活性化している細胞株ではダサチニブに耐性であることを示した。一方、MET 阻害剤は MET 活性を有するダサチニブ耐性株で高い感受性を示したが、MET 活性のないダサチニブ感受性株には耐性であった。以上より、胃癌における c-Src 阻害剤または MET 阻害剤の治療は、MET 遺伝子増幅の解析によって最適化されることが示唆された。</p> <p><b>【結論】</b> c-Src は胃癌の治療標的として有望であり、今後の臨床応用が期待される。また、MET 遺伝子増幅の解析は、c-Src 阻害剤治療に適した患者選択に有用である可能性が示唆された。</p>	<table border="1"> <tr> <td>博士論文の印刷公表</td> <td>公表年月日</td> <td>出版物の種類及び名称</td> </tr> <tr> <td></td> <td>2010年5月1日 公表</td> <td>出版物名</td> </tr> <tr> <td></td> <td>公表内容</td> <td>Molecular Cancer Therapeutics Vol. 9 No. 5 p. 1188-1197</td> </tr> <tr> <td></td> <td>全文</td> <td>2010年5月1日 発行</td> </tr> </table>	博士論文の印刷公表	公表年月日	出版物の種類及び名称		2010年5月1日 公表	出版物名		公表内容	Molecular Cancer Therapeutics Vol. 9 No. 5 p. 1188-1197		全文	2010年5月1日 発行
博士論文の印刷公表	公表年月日	出版物の種類及び名称											
	2010年5月1日 公表	出版物名											
	公表内容	Molecular Cancer Therapeutics Vol. 9 No. 5 p. 1188-1197											
	全文	2010年5月1日 発行											

c-Src は、癌の増殖や生存、進展に関わるチロシンキナーゼであり、c-Src を標的とする治療戦略は多くの癌腫で有望視されている。ダサチニブは、BCR-ABL 阻害剤として慢性骨髄性白血病に対し臨床導入されているが、c-Src 阻害活性も有していることからc-Src 阻害剤としても臨床開発がすすめられている。胃癌組織においてc-Src キナーゼ活性が上昇しているとの報告はあるが、c-Src を胃癌の治療標的として検討した報告は過去にない。そこで本研究では、ダサチニブおよびc-Src に対する RNA 干渉 (siRNA) を用いて c-Src の抑制が胃癌細胞株の増殖や生存に及ぼす影響を検討し、さらに、ダサチニブの耐性機構についても検討を行った。

#### 方法

ダサチニブや siRNA による c-Src の抑制が細胞内シグナルに与える影響を Western blot 法で、細胞周期やアポトーシスに与える影響をフローサイトメトリー法で検討した。

#### 結果と考察

胃癌細胞株における c-Src 活性を Western blot 法で確認すると、大半に c-Src の活性化がみられた。c-Src が活性化している胃癌細胞株の一部はダサチニブによる増殖抑制効果を認めた。これらの細胞株では細胞外シグナル調節キナーゼ (ERK) のリン酸化が抑制され G1 期停止が誘導されるか、ERK と AKT のリン酸化がともに抑制されアポトーシス誘導されるかの、いずれかが起こっていた。siRNA により c-Src 発現を特異的に抑制するとダサチニブと同様の効果が得ら

れたことから、ダサチニブによる胃癌細胞株の増殖抑制効果は c-Src の抑制に起因していることが示された。一方、c-Src が活性化している MET が活性化している胃癌細胞株はダサチニブに耐性で、ダサチニブによって ERK と AKT のリン酸化は抑制されず、G1 期停止やアポトーシスの誘導もみられなかった。これら MET の活性化を有するダサチニブ耐性胃癌細胞株の大部分は *MET* 遺伝子増幅を有しており、MET 阻害剤に対して高い感受性を示した。今回の研究で、c-Src 活性の抑制は胃癌細胞株の増殖、生存を抑制するが、MET の活性化が c-Src 阻害剤の耐性に関与していることを示した。一方、MET 阻害剤は MET 活性を有するダサチニブ耐性株で高い感受性を示した。

以上より、c-Src は胃癌の治療標的として有望であり、今後の臨床応用が期待される。また、*MET* 遺伝子増幅の解析は、c-Src 阻害剤または MET 阻害剤治療に適した患者選択に有用である可能性が示唆された。

本研究は、胃癌に対する新しい治療戦略を提案するものであり、極めて重要な知見であると思われる。よって本研究は、学位論文として価値のあるものと考ええる。