



Inhibition of the mTOR/S6K signal is necessary to enhance fluorouracil-induced apoptosis in gastric cancer cells with HER2 amplification

富岡, 秀夫

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2012-09-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲5652

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1005652>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



(課程博士関係)

学位論文の内容要旨

**Inhibition of the mTOR/S6K signal is necessary to
enhance fluorouracil-induced apoptosis in gastric
cancer cells with ~~HER2~~ amplification**

HER2 増幅胃癌細胞におけるフルオロウラシル誘導アポトーシスの増強には mTOR/S6K シグナルの抑制が必要である

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻
腫瘍・血液内科学
(指導教員：南 博信教授)
富岡 秀夫

内容要旨

切除不能な進行胃癌は依然として予後不良であり、従来の殺細胞性抗癌薬治療を施行しても中央生存期間は一年を満たさない。そのため新たな治療戦略が切望されていた。1990 年代後半より分子標的薬が登場し、HER2 過剰発現している乳がんにおける trastuzumab のように生存期間の有意な延長を示した例も出てきている。胃癌においても HER2 増幅が確認されており、その頻度はおよそ 20%で乳がんでの発現率と同様である。HER2 過剰発現のある切除不能進行胃癌に対して行われた化学療法単独 (cisplatin+fluorouracil あるいは capecitabine) に trastuzumab の上乗せ効果を見た phaseⅢ study (ToGA study) において無再発期間、全生存期間において trastuzumab の上乗せ効果の有効性が証明され、本邦においても 2011 年に HER2 過剰発現進行胃癌において trastuzumab が保険適応となっている。しかしながら trastuzumab に抵抗性な胃癌細胞においても化学療法の効果を増強させることができるのか、Trastuzumab の耐性のコントロールと言った問題が残っている。今回、我々は HER2 増幅している胃癌細胞 2 種類 (trastuzumab に感受性のある NCI-N87 と感受性のない MKN-7) を比較して、trastuzumab の効果と化学療法の効果増強の効果を探索した。細胞増殖は MTS assay で、細胞のシグナルは western blotting で評価した。Trastuzumab と化学療法 (fluorouracil, doxorubicin, cisplatin and paclitaxel) の相加相乗効果は combination index で判定した。Fluorouracil によるアポトーシスの評価は western blotting で poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) を検出することで評価した。結果は NCI-N87 では trastuzumab で S6K のリン酸化が抑制され、fluorouracil と doxorubicin で相乗効果を認めたが、MKN-7 では S6K のリン酸化は抑制されず、いずれの併用でも相乗効果は認められなかった。これらの結果より S6K のリン酸化の抑制が trastuzumab における抗腫瘍効果の発現と化学療法との相乗効果を生み出す重要な分子的機序であると考えた。MKN-7 が trastuzumab に抵抗性なのは、EGFR からのシグナルの影響を強く受けていると言われてる。そのため次に我々は S6K の上流に位置する mTOR の阻害剤である everolimus を用いて fluorouracil 誘導されるアポトーシスが増強するか PARP を調べたところ NCI-N87 と MKN-7 の両方において cleaved PARP の発現の増強を認めた。この現象は他の HER2 が増幅していない胃癌細胞では認められなかった。MKN-7 は EGFR からのシグナルが強く関与していると考えられるため、次に我々は EGFR の阻害剤である CL-387, 785 を用いて MKN-7 の細胞増殖と細胞シグナルを検討した。CL-387, 785 は MKN-7 の細胞増殖は抑えるものの S6K のリン酸化は抑制せず、fluorouracil との併用でも cleaved PARP の増強は認められなかった。以上の結果より fluorouracil に誘導されるアポトーシスを増強させるには S6K のリン酸化を抑制することが重要なことであり、このことは HER2 増幅した胃癌細胞に特異的に言えることである。Everolimus は trastuzumab 耐性になった HER2 増幅胃癌に対して次のオプションに成りうるかもしれない。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第 2277号	氏 名	富岡秀夫
論文題目 Title of Dissertation	<p>Inhibition of the mTOR/S6K signal is necessary to enhance fluorouracil-induced apoptosis in gastric cancer cells with <i>HER2</i> amplification</p> <p><i>HER2</i> 増幅胃癌細胞におけるフルオロウラシル誘導アポトーシスの増強には mTOR/S6K シグナルの抑制が必要である</p>		
審査委員 Examiner	<p>主 査 東 健 Chief Examiner</p> <p>副 査 平井みどり Vice-examiner</p> <p>副 査 南 康博 Vice-examiner</p>		

(要旨は1,000字～2,000字程度)

切除不能な進行胃癌は依然として予後不良であり、従来の殺細胞性抗癌薬治療を施行しても中央生存期間は一年を満たさない。そのため新たな治療戦略が切望されていた。1990年代後半より分子標的薬が登場し、HER2 過剰発現している乳がんにおける trastuzumab のように生存期間の有意な延長を示した例も出てきている。胃癌においても HER2 増幅が確認されており、その頻度はおよそ 20%で乳がんでの発現率と同様である。HER2 過剰発現のある切除不能進行胃癌に対して行われた化学療法単独 (cisplatin+fluorouracil あるいは capecitabine) に trastuzumab の上乗せ効果を見た phase III study (ToGA study) において、無再発期間と全生存期間で trastuzumab の上乗せ効果の有効性が証明され、本邦でも 2011 年に HER2 過剰発現進行胃癌で trastuzumab が保険適応となっている。しかしながら trastuzumab に抵抗性な胃癌細胞で化学療法の効果を増強させることができるのか。Trastuzumab の耐性のコントロールと言った問題が残っている。

本研究は、HER2 が増幅している胃癌細胞で、trastuzumab に感受性のある NCI-N87 と感受性のない MKN-7 を比較して、trastuzumab による化学療法の増強効果を探索した。細胞増殖は MTS assay で、細胞のシグナルは western blotting で評価した。Trastuzumab と化学療法 (fluorouracil, doxorubicin, cisplatin and paclitaxel) の相加相乗効果は combination index で判定した。Fluorouracil によるアポトーシスの評価は western blotting で poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) を検出することで評価した。

本検討において、NCI-N87 では trastuzumab で S6K のリン酸化が抑制され、fluorouracil と doxorubicin で相乗効果を認めたが、MKN-7 では S6K のリン酸化は抑制されず、いずれの併用でも相乗効果は認められなかった。これらの結果より S6K のリン酸化の抑制が trastuzumab における抗腫瘍効果の発現と化学療法との相乗効果を生み出す重要な分子的機序であると考えられた。また、MKN-7 が trastuzumab に抵抗性なのは EGFR の増幅があり、その増殖が EGFR からのシグナルの影響を強く受けていることが報告されている。そこで、

S6Kの上流に位置するmTORの阻害剤であるeverolimusを用いてfluorouracil誘導されるアポトーシスが增強するかPARPを調べたところ、NCI-N87とMKN-7の両者においてcleaved PARPの発現の增強を認めた。この現象は他のHER2が増幅していない胃癌細胞では認められなかった。さらに、MKN-7はEGFRからのシグナルが強く関与していると考えられるため、次にEGFRの阻害剤であるCL-387,785を用いてMKN-7の細胞増殖と細胞シグナルを検討したところ、CL-387,785はMKN-7の細胞増殖は抑えるもののS6Kのリン酸化は抑制せず、fluorouracilとの併用でもcleaved PARPの增強は認められなかった。

本研究は、fluorouracilに誘導されるアポトーシスを增強させるにはS6Kのリン酸化を抑制することが重要なことであり、Everolimusはtrastuzumab耐性になったHER2増幅胃癌に対する治療の、次のオプションに成りうるという重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。よって、本研究者は、博士（医学）の学位を得る資格があると認める。