

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	浅 香 亮 一
論文審査担当者	主 査 伊藤研一 副 査 本田孝行・菅野祐幸
論文題目	
Sirtuin 1 promotes the growth and cisplatin resistance of endometrial carcinoma cells: a novel therapeutic target. (Sirtuin1 は子宮内膜癌細胞の増殖とシスプラチン耐性を亢進させる:新規治療標的の可能性)	
(論文の内容の要旨)	
<p>子宮内膜癌は近年増加しており、より有効な薬剤開発のためには病態の解明が急務である。また肥満は子宮内膜癌の重要な危険因子であるが、肥満による内膜癌誘発の機序は解明されていない。この機序に関わる候補因子として、高カロリー摂取で発現抑制される可能性がある Sirtuin1 (SIRT1) に注目した。SIRT1 は NAD 依存性ヒストン脱アセチル化酵素で、正常組織においてカロリー制限などのストレスにより発現が誘導され、ヒストンのみでなく p53 などの蛋白を脱アセチル化して不活化することにより、代謝制御・細胞周期制御・DNA 修復・アポトーシスの抑制などに関与する。その結果細胞の寿命を延長させることから長寿遺伝子として知られている。SIRT1 は従来癌抑制的に作用すると考えられてきたが、近年では癌細胞ではむしろ促進的に作用するという報告もある。本研究では、正常子宮内膜および子宮内膜癌における SIRT1 発現とその機能の解明を目的とし、子宮内膜癌の新たな治療標的となる可能性を検討した。</p> <p>当院倫理委員会の承認下に臨床検体での SIRT1 蛋白の発現を免疫染色で検討したが、正常子宮内膜において体格指数 (BMI) と SIRT1 の発現に相関を認めなかった。しかし、子宮内膜癌では正常子宮内膜よりも有意に SIRT1 発現が亢進し (31.3 vs 8.5; PI (positivity index) 中央値: $p < 0.05$)、子宮内膜癌 108 症例の予後解析で PI50 以上の高発現症例では、有意に生存期間が短縮していることを見出した ($P < 0.05$)。これらの結果から SIRT1 が子宮内膜癌に促進的に作用している可能性が考えられたため、in vitro の検討を行った。</p> <p>子宮内膜癌細胞株 (HEC151, HEC1B, HHUA, ECC1, Ishikawa) を用い SIRT1 の内膜癌細胞での機能解析を行った。増殖能を WST-1 assay で検討したところ、全ての細胞株において siRNA 法で SIRT1 発現を抑制すると増殖能が抑制され ($p < 0.05$)、cDNA 導入で SIRT1 を強制発現させると増殖能が亢進した ($p < 0.05$)。SIRT1 を高発現させた HHUA 細胞 (HHUA-SIRT1) に SIRT1 阻害剤の EX527 を投与すると、増殖能は抑制された。また HHUA-SIRT1 では、抗癌剤[シスプラチン (CDDP)]に対する耐性が増強したが (WST-1 assay, $p < 0.05$)、この耐性も EX527 の投与で抑制された。これらから、SIRT1 は子宮内膜癌細胞の増殖と抗癌剤耐性を増強させると考えられた。</p> <p>SIRT1 による抗癌剤耐性の機序として、p53 の抑制を介したアポトーシスの抑制による可能性が考えられたため、HHUA-SIRT1 と HHUA-Control に CDDP を添加しアポトーシス細胞の割合を annexin-V/propidium iodide (PI) 蛍光染色で検討した。HHUA-SIRT1 では HHUA-Control より有意にアポトーシスが減少 (2% vs 5%; $p < 0.05$) し、EX527 添加により、両細胞ともアポトーシスの割合は増加したが (6% vs 10%)、この差は p53 阻害剤 cyclic pifithrin-α (CPa) の添加で抑制された。このことより、SIRT1 は p53 を介したアポトーシスの抑制により CDDP 耐性増強効果を示すことが示唆された。</p>	

論文の内容の要旨

一方、多くの内膜癌細胞株で p53 変異の報告があるため、p53 野生株 (HEC151) と p53 機能喪失変異株 (HEC1B) に対して CDDP 耐性を検討した。p53 機能喪失変異の有無によらず EX527 による CDDP 耐性減弱が観察され、SIRT1 は p53 以外の経路でも CDDP 耐性を増強している可能性が考えられた。

次に SIRT1 および EX527 の効果をヌードマウス皮下の異種移植腫瘍で検討した。HHUA-SIRT1 腫瘍は HHUA-Control 腫瘍に比べ、4 週後には約 40% 腫瘍体積が増大した ($p < 0.05$)。また、CDDP 投与により HHUA-Control 腫瘍は縮小したが、HHUA-SIRT1 腫瘍は縮小しなかった ($p < 0.05$)。EX527 投与により HHUA-Control と HHUA-SIRT1 の両腫瘍とも増大が抑制された。HEC1B 細胞の異種移植腫瘍でも検討を行ったところ、やはり EX527 投与により有意に腫瘍増大が抑制された ($p < 0.05$)。これらのことから、SIRT1 は *in vivo* でも子宮内膜癌の増殖に促進的に作用し、EX527 は SIRT1 の効果を抑制し、抗腫瘍効果を持つことが示唆された。また、EX527 の投与により明らかな有害事象は発生しなかった。

以上より SIRT1 は、子宮内膜癌の増殖や抗癌剤耐性増強に関与し、SIRT1 阻害剤 EX527 は子宮内膜癌に対する新規治療薬となりうることが示唆された。