

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	横井謙太
論文審査担当者	主査 伊藤研一 副査 田中榮司・塩沢丹里
論文題目	Survival pathway of cholangiocarcinoma via AKT/mTOR signaling to escape RAF/MEK/ERK pathway inhibition by sorafenib (胆管癌におけるソラフェニブによる RAF/MEK/ERK 抑制機序からの AKT/mTOR シグナル伝達を介した細胞死回避機序)
(論文の内容の要旨)	<p>【背景と目的】細胞起源を同じくする胆管癌 (CCC) と肝細胞癌 (HCC) において、HCC のみで臨床効果が認められているソラフェニブの有効性が異なる原因を模索することを目的とした。細胞内シグナル伝達を主体にソラフェニブ投与に伴う変化を検証し、その差異に対する抑制剤投与による増殖抑制効果を測定した。</p> <p>【材料および方法】CCC 細胞株、HCC 細胞株をそれぞれ 3 種類使用し、MTT アッセイによる細胞増殖評価、ウエスタンブロッティング、およびアポトーシス分析を用いて、CCC 細胞株と HCC 細胞株との間のソラフェニブ投与によるシグナル伝達経路特性の差異を調べた。</p> <p>【結果】ソラフェニブは、<i>in vitro</i> において CCC、HCC とともに細胞増殖を有意に抑制したが、増殖抑制効果およびその作用点である ERK リン酸化の抑制は CCC で弱かった。CCC では、ソラフェニブ投与により AKT S473 および mTORC2 のリン酸化が有意に増強され、HCC では AKT S473 リン酸化の減弱が認められた。HCC 同様の効果を期待して、AKT リン酸化阻害薬 (MK2206) をソラフェニブと併用にて投与し増殖抑制を評価したが、いずれもソラフェニブ単独投与以上の抑制効果を認めなかった。AKT S473 を直接リン酸化させる mTORC2 複合体の構成成分である Rictor を標的とする siRNA を用いて、mTORC2 複合体の抑制を行った。これによる CCC 中の mTORC2 複合体の抑制は、CCC (RBE 細胞株) の増殖を抑制したが、その要因の一つとして、AKT S473 リン酸化の抑制およびその下流にあたる FOXO1 の増加を介したアポトーシスの増強が考えられた。</p> <p>ソラフェニブ投与における HCC のオートファジー活性化とは対照的に、mTORC1 およびオートファジーの活性化は、CCC ではソラフェニブの影響を受けなかった。</p> <p>RBE 細胞株において、siRNA による mTORC2 抑制下でソラフェニブおよび mTORC1 活性化を抑制するためのエベロリムスを同時投与すると、mTORC1 リン酸化の阻害に加えてソラフェニブおよびエベロリムス依存性 AKT Ser473 リン酸化の抑制がおり、増殖抑制を増強することがわかった。</p> <p>【結論】CCC ではソラフェニブによる RAF / MEK / ERK 経路抑制からの細胞死に対する回避経路として AKT / mTOR 経路が存在すること示され、ソラフェニブ、エベロリムス (mTORC1 活性の抑制)、mTORC2 活性の抑制 (siRNA) を併用することで細胞死回避機序を抑えることができることを明らかにした。この機序は、CCC 治療に有望な、新しいアプローチにつながる可能性がある。</p>