Down-regulation of Insulin-like growth factor-binding protein 7 in cisplatin-resistant non-small cell lung cancer

メタデータ	言語: jpn 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2018-01-16 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 岡村, 純 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/3212

博士（医学）　岡村　純

論文題目

Down-regulation of Insulin-like growth factor-binding protein 7 in cisplatin-resistant non-small cell lung cancer

（シスプラチン耐性非小細胞肺がんにおけるインスリン様成長因子結合タンパク質 7 型の低発現について）

論文の内容の要旨

［はじめに］

シスプラチン (Cisplatin: CDDP) は非小細胞肺がん (non-small cell lung carcinoma: NSCLCs) を含む様々ながんに対して使われる抗がん剤だが、しばしば出現する薬剤耐性が CDDP を含む化学療法における障害となっている。インスリン様成長因子結合タンパク質 7 型 (Insulin-like growth factor-binding protein 7: IGFBP7) は分泌タンパク質である Insulin-like growth factor-binding protein (IGFBP) スーパーファミリーの一つで細胞増殖、細胞間接着、分化、血管新生などの様々な細胞プロセスを制御していると言われている。IGFBP7 は、近年がんに対するインターフェロン療法の感受性との関与についての報告があるが、CDDP 耐性に関する報告はない。分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ (Mitogen-activated protein kinase: MAPK) 経路を制御する MAPK ホスファターゼ (MKPs) の一つである MKP1 を抑制することで NSCLCs 細胞の CDDP 感受性を高める報告がある。一方 MKP3 においては NSCLCs 細胞の CDDP 耐性との関係についての報告はない。

以上より今回我々は複数のがん由来の CDDP 耐性細胞と CDDP 感受性細胞を用いて IGFBP7 の発現量を比較し、さらに NSCLCs 由来の CDDP 耐性細胞と CDDP 感受性細胞を用いて CDDP 耐性における IGFBP7 の役割を調べた。

［材料ならびに方法］

組織は NSCLCs 患者の腫瘍組織 (n=14) 及び正常組織 (n=9) を使用した。細胞株は SCC-25 (舌がん) 、 KB-3-1 (子宮頸がん) および卵巣がん由来細胞株 (IGROV1、 A2780、 2008) 、 肺がん由来細胞株 (PC-9、PC-14、SBC-3) 、さらに各細胞株の CDDP 耐性株を使用した。NSCLCs 異種移植片 (BML-1、BML-5、 BML-7、 BML-11) は Champions Biotechnologies 社によって提供された。

各組織及び細胞における IGFBP7 および MKP3 の発現量は、定量 RT-PCR 法により定量し、比較検討した。IGFBP7 および MKP3 の発現抑制は small interfering RNA (siRNA) 法により行った。CDDP 治療は、5 段階 (0.5 μg/ml、1 μg/ml、2 μg/ml、5 μg/ml、10μg/ml) の CDDP 濃度で 48 時間治療する方法と、50%阻害濃度 (IC_{50}) の CDDP にて 3 日間治療を行う方法で行った。細胞の増殖の評価には MTT アッセイを用いた。各タンパク質の解析には各種抗体を使用し、ウェスタンブロット法を用いた。

本研究は ジョンズホプキンス大学の治験審査委員会の承認を受けた後、行われた。

［結果］

NSCLCs 患者腫瘍組織および正常組織における IGFBP7 の発現は、腫瘍組織 14 例中 5 例 (35%) 、 正常組織 9 例中 8 例 (88%) 、と有意に (p=0.029) 腫瘍組織で発現低下を認めた。さらに同一患者からの腫瘍組織および正常組織における IGFBP7 の発現を比較したところ、5 例中 4 例で腫瘍組織における IGFBP7 が正常組織と比べ有意に低発現となっていた。

9 組中 7 組の細胞で CDDP 耐性細胞における IGFBP7 の有意な発現低下を認めた。また、 NSCLCs 由来の CDDP 感受性細胞と CDDP 耐性細胞にそれぞれ CDDP 治療を行ったところ、CDDP 感受性細胞における IGFBP7 の発現は有意に上昇したが CDDP 耐性細胞においては認められなかった。CDDP 耐性を獲得した NSCLCs 細胞における IGFBP7 の欠失が示唆された。CDDP 感受性 NSCLCs 細胞の IGFBP7 発現を抑制した細胞をコントロールと共に CDDP にて治療したところ、IGFBP7 発現を抑制された細胞はコントロールと比べ有意に細胞増殖能が増加していた。IGFBP7 発現低下により CDDP 感受性細胞に CDDP 耐性を付与される可能性が示唆された。

PC-14 および PC-14/CP における CDDP 治療前後の各タンパク質の解析にて IGFBP7 タンパク質は PC-14 にて発現が認められ、PC14/CP では認められなかった。また CDDP 治療後の PC-14 では IGFBP7 タンパク質がより高発現となった。 MKP3 タンパク質は PC-14/CP で PC-14 より高い発現を認めた。MKP3 の発現抑制によって PC-14/CP における IGFBP7 の mRNA、タンパク質ともに発現量が増加した。IGFBP7 が MPK3 によって制御されている可能性が示唆された。ヌードマウスに移植された NSCLCs 患者由来の NSCLCs 異種移植片 (BML-1、BML-5、BML-7、BML-11) を CDDP にて治療を行ったところ、BML-5 のみがコントロールと比べて増殖速度の抑制が認められ、CDDP 感受性と考えられた。BML-5 は他の移植片と比べて最も高い IGFBP7 タンパク質発現を認めたのに対し、MKP3 タンパク質の発現は最も低かった。

［考察］

本研究により、複数のヒトがん細胞において CDDP 耐性細胞では CDDP 感受性細胞と比べて IGFBP7 が低発現していることを確認し、NSCLCs においては正常肺組織と比べて肺がん組織で IGFBP7 発現が低下していることを示した。さらに大きな母集団で検討することで IGFBP7 が CDDP 耐性や肺がんの悪性度のバイオマーカーになりうると考えられた。NSCLCs 細胞の IGFBP7 発現を抑制することで CDDP 耐性が付与される現象を確認し、また NSCLCs における CDDP 耐性獲得の過程で IGFBP7 と MKP3 が相互に制御していることが示唆された。

［結論］

今回の研究で NSCLCs において、IGFBP7 の発現抑制・欠失が CDDP 耐性における機能的役割を持つことが初めて報告された。今後のさらなる研究で

IGFBP7 が CDDP 耐性の新しいバイオマーカーとなることで治療戦略的に重要な治療前効果予測の一助になる可能性および IGFBP7 が CDDP 耐性 NSCLCs に対する化学療法増感剤となる可能性が示唆された。