

## 学位論文の内容の要旨

専攻	分子情報制御医学	部門	病態制御
学籍番号	08D746	氏名	丸岡 敬幸
論文題目	Lemongrass essential oil and citral inhibit Src/Stat3 activity and suppress the proliferation/survival of small-cell lung cancer cells, alone or in combination with chemotherapeutic agents		

## (論文要旨)

## はじめに

小細胞肺癌(SCLC)は最初の化学療法にはよく反応するが、早期に再発・転移を起こし、化学療法に抵抗性となり、急速に増大し、予後は極めて不良である。それ故、新しい治療薬が必要とされている。

レモングラス(LG)はハーブとして、お茶やエッセンシャルオイル(EO)に広く利用されている。また、消炎・鎮痛作用、抗菌・抗真菌作用、抗ウイルス作用も認められ、さらに種々の腫瘍細胞に対する増殖抑制効果を有することも報告されている。しかし、ヒトのSCLC cellに対する効果、及びそのメカニズムについては、未だ明確にされていない。

そこで、我々は今回の研究において、以下の諸点について検討した。

1. LG-EOとその主成分であるcitralのSCLC cell lineの増殖/生存に及ぼす効果について検討した。
2. SCLCを含む肺癌に過剰に発現している癌原遺伝子産物Srcと、Srcにより活性化される転写因子Stat3に対する、LG-EO及びcitralの活性抑制効果について検討した。
3. LG-EO及びcitralのSrc, Stat3の活性抑制作用をconfirmするために、SCLC cell lineにwild-type *src* gene(wt-*src*)を遺伝子導入し、Srcを過剰発現させ、LG-EO及びcitralの効果に対する影響を、また、現在臨床でSCLCに対して使用されている4種の抗癌剤の抗腫瘍効果に対するwt-*src*の遺伝子導入による影響を検討した。
4. wt-*src*を遺伝子導入したSCLC cell line、及び、抗癌剤に相対的に抵抗性を示すSCLC cell lineに対するcitralと4種の抗癌剤との併用効果を検討した。

## 材料と方法

ヒトの4種のSCLC cell lines (LU134AM, LU135, LU165, MN1112) を研究に用いた。LG-EOのcitralの含有量は74,2%である。抗癌剤として、シスプラチン(CDDP), エトポシド(VP-16), アムルピシン(AMR), イリノテカンの活性代謝産物(SN38)を使用した。細胞の増殖/生存及び、IC<sub>50</sub>の解析には、WST-1法を用いた。蛋白の分析は、免疫沈降法とWestern Blot法で行った。また、wt-*src* cDNAを組み換えた真核細胞発現ベクターpUSE wt-*src*を用いてLU135 cellに、electroporation法により遺伝子導入した。apoptosis解析は抗single-stranded DNA IgM抗体を用いた間接蛍光抗体法によるflow cytometryにて行った。各抗癌剤とcitralとの併用効果は、WST-1 assayを行い、Bliss Independence modelにより解析した。

## 結果

- 1) LG-E0及びcitralは4種のSCLC cell lineの増殖／生存をdose-dependentに抑制した。その内の2種のcell line (LU165, MN112)では、他の2種のcell line (LU134AM, LU135)に比しIC<sub>50</sub>値が優位に高かった。
- 2) LG-E0及びcitralは、4種のいずれのSCLC cell lineにおけるSrc及びStat3の活性化に必須のチロシン残基 (各々Y416, Y705) のリン酸化を抑制した。その抑制効果の程度は、cell line毎に異なっていた。また、転写因子としてのStat3のtarget geneである*Bcl-xL*及び*Mcl-1* 抗apoptosis因子の発現を抑制した。
- 3) wt-*src*を遺伝子導入したSCLC cellでは、LG-E0及びcitralによるSrc及びStat3の活性抑制作用に対して抵抗性を示すとともに、増殖／生存抑制効果も有意に減弱していた。また、それらのapoptosis誘導作用も減弱した。さらに、4種の抗癌剤による増殖／生存抑制作用も有意に減弱していた。
- 4) 4種のSCLC cell lineのうちLG-E0及びcitralに相対的に抵抗性の2種のcell line (LU165, MN112)は、他の2種のcell line (LU134AM, LU135)に比し、4種の抗癌剤に対しても有意に抵抗性を示した。この2種のcell lineとwt-*src*遺伝子導入細胞に対して、それぞれの抗癌剤のIC<sub>50</sub>以下の濃度と、citralのIC<sub>50</sub>以下の濃度における併用効果を検討したところ、Bliss Independence analysisにより、Combination Index (CI)は1以下となり、その併用効果は、少なくとも相加効果以上であった。

以上の研究結果は、LG-E0及びcitralが、SCLC cell lineにおけるSrc及びStat3の構成的な活性を抑制し、抗apoptosis因子 *Bcl-xL*, *Mcl-1*の発現を抑制し、その結果、SCLC cellの増殖／生存を抑制すると考えられた。さらに今回の研究結果は、LG-E0及びcitralが、それぞれ単独で、あるいは現在臨床において治療に用いられている抗癌剤との併用により、SCLCに対する新しい治療の選択肢となる可能性が示唆された。

掲 載 誌 名	International Journal of Oncology			第 52 卷, 第	号
(公表予定) 掲 載 年 月	2018 年 3 月	出版社 (等) 名	Spandidos Publications Ltd		
Peer Review	(有)		無		

(備考) 論文要旨は、日本語で1, 500字以内にまとめてください。