

氏名(本籍)	あ い た ゆ う い ち 會 田 雄 一 (茨 城 県)			
学位の種類	博 士 (医 学)			
学位記番号	博 甲 第 6601 号			
学位授与年月日	平成 25 年 3 月 25 日			
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当			
審査研究科	人間総合科学研究科			
学位論文題目	スニチニブは血管内皮増殖因子受容体の阻害によって褐色細胞腫細胞でのカテコラミンの合成と分泌を抑制する			
主査	筑波大学教授	博士(医学)	西 山 博 之	
副査	筑波大学准教授	博士(医学)	鈴 木 浩 明	
副査	筑波大学准教授	博士(医学)	福 島 敬	
副査	筑波大学講師	博士(理学)	塩 見 健 輔	

論 文 の 内 容 の 要 旨

(目的)

スニチニブは経口の分子標的治療薬であり、血管内皮増殖因子受容体(VEGFR)を始めとする受容体型チロシンリン酸化酵素を阻害して抗血管新生作用や抗腫瘍作用を発揮する。こうした作用から、スニチニブは悪性褐色細胞腫の治療薬として期待されているが、その作用機序については十分に明らかにされていない。そこで本研究では、褐色細胞腫の腫瘍細胞に対するスニチニブの効果を明らかにするため、褐色細胞腫の実験モデルとして確立されている未分化のラット褐色細胞腫細胞PC-12を用い、カテコラミン合成の律速酵素であるチロシン水酸化酵素の活性調節ならびにカテコラミンの分泌機構への作用について検討を行った。

(対象と方法)

スニチニブを含む培地で細胞を培養し、その効果を検討した。受容体型チロシンリン酸化酵素のノックダウンにはRNA干渉法を用いた。チロシン水酸化酵素の活性はチロシンから合成されたドーパを測定して評価した。チロシン水酸化酵素、ホスホリパーゼC(PLC)- γ 、細胞外シグナル制御キナーゼ(ERK)の検出にはウェスタンブロットを用いた。プロテインキナーゼC(PKC)の活性とイノシトール三リン酸の産生はキットを用いて測定した。

(結果)

スニチニブはチロシン水酸化酵素の活性を濃度依存的に低下させるとともに、酵素量を減少させた。チロシン水酸化酵素のリン酸化修飾を調べると、酵素の安定化や活性化に重要な31番と40番のセリン残基のリン酸化が抑制されていた。一方、スニチニブは細胞内カルシウム濃度の上昇に必要なイノシトール三リン酸の産生を減少させ、腫瘍細胞からのカテコラミンの分泌を抑制した。VEGFR-2をノックダウンすると、スニチニブによる作用は減弱された。VEGFR-2のシグナル伝達を担う分子を調べると、PLC- γ のリン酸化とこれに続くPKCの活性化がスニチニブによって抑制されていた。またERKの活性化も抑制されていた。本研究ではさらに、褐色細胞腫と共通の遺伝的背景を有する神経芽細胞腫のモデルであり、チロシン水酸化酵素を発現しているヒト神経芽細胞腫細胞SK-N-SHにおいて、スニチニブがチロシン水酸化酵素の活

性を低下させることを確認した。

(考察)

本研究から、先行研究で報告された褐色細胞腫患者へのスニチニブの投与によるカテコラミン産生の抑制は、少なくとも一部は抗血管新生作用によるものではなく、腫瘍細胞への直接的な作用によるものであることが示唆される。チロシン水酸化酵素の40番のセリン残基のリン酸化は酵素の活性化に重要な役割を果たしており、PKCがそのリン酸化を担っていることが知られている。またERKによる31番のセリン残基のリン酸化は酵素の十分な活性化を可能にすることが報告されている。これらのことから、スニチニブはVEGFR-2/PLC- γ /PKC/Raf/MEK/ERKシグナル経路を介して31番と40番のセリン残基のリン酸化を抑制したことが考えられる。またスニチニブはVEGFR-2を阻害することにより、PLC- γ のリン酸化に続くイノシトール三リン酸の産生を減少させてカテコラミンの分泌を抑制したことが示唆される。褐色細胞腫の腫瘍細胞では正常の副腎髄質に比べてチロシン水酸化酵素が過度に活性化されていることから、スニチニブはカテコラミンの合成と分泌を抑制することにより悪性褐色細胞腫の症状の改善に寄与することが期待される。

審査の結果の要旨

本研究では、PC12およびSK-N-SH細胞を用いて、スニチニブによるカテコラミン合成の律速酵素であるチロシン水酸化酵素の活性制御機構を明らかにした。この成果は悪性褐色細胞腫に対するスニチニブによる治療効果の可能性を示唆した論文であり、研究論文としての意義を有するものである。

平成25年1月8日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。