

主 論 文 要 旨

報告番号	甲 (乙) 第 号	氏 名	迫 裕 之
主 論 文 題 名			
Antitumor Effect of the Tyrosine Kinase Inhibitor Nilotinib on Gastrointestinal Stromal Tumor (GIST) and Imatinib-Resistant GIST Cells (消化管間質腫瘍 (GIST) 並びにイマチニブ耐性GIST細胞に対するニロチニブの抗腫瘍効果についての検討)			
(内容の要旨)			
<p>イマチニブは、外科的治療が不可能な消化管間質腫瘍 (gastrointestinal stromal tumor: GIST) に対する治療として絶大な効果を発揮している。しかし、イマチニブ耐性のGIST患者の予後は依然として良好とは言えず、イマチニブ耐性のメカニズムも完全には解明されていない。本研究では、イマチニブ耐性のGIST 細胞株を樹立してその耐性メカニズムを探求するとともに、新規受容体型チロシンキナーゼ阻害剤であるニロチニブの効果を検証する。</p> <p>イマチニブ耐性株は、GISTの細胞株であるGK1C、GK3Cを持続的にイマチニブに曝露させることで樹立に成功した。持続的な曝露によってIC₅₀は、それぞれ4.47±0.97μMから11.74±0.17μM (p<0.001)、11.15±0.17μMから41.37±1.07μM (p<0.001) へと増加し、GIST細胞株のイマチニブへの耐性化を確認した。</p> <p>イマチニブ耐性株 (GK1C-IR、GK3C-IR) の、イマチニブによるアポトーシス誘導を検証した。GK1C、GK1C-IR、GK3C、GK3C-IRをそれぞれイマチニブに曝露させた後に、FITC標識したAnnexin VとPIを用いて染色し、フローサイトメトリー (FACS) で分析した。結果はいずれの細胞株においても、イマチニブによってアポトーシスを誘導された細胞数は、耐性株 (GK1C-IR、GK3C-IR) の方が有意に減少していた。</p> <p>薬剤耐性の一因として、シグナル伝達経路の変化によることが考えられている。イマチニブ耐性株と野生株で、シグナル伝達経路に変化がないかをFACSで検証した。KIT、PDGFRA、AKT、SRC、ERK1/2を検証すると、KIT、PDGFRA、AKT、SRCではリン酸化にほとんど差がなかったが、ERK1/2のリン酸化は、耐性株では有意に増加しており、イマチニブ耐性メカニズムの一因ではないかと考えられた。</p> <p>ニロチニブは、第二世代のチロシンキナーゼ阻害剤で、GISTにおける腫瘍学的にキーリングとなるKITやPDGFRAに変異をもつ細胞の自己リン酸化や増殖を、in vitroでもin vivoでも阻害することが示されている。ニロチニブのGISTへの効果を検証するため、GISTのXenograft lineであるGK1X、GK2X、GK3XをそれぞれSCID miceへ移植し、イマチニブ40mg/kgもしくはニロチニブ40mg/kgを28日間与え続け、腫瘍量の変化を測定した。腫瘍抑制率は、GK2XとGK3Xではニロチニブの方が高い傾向にあり、GISTに対して、ニロチニブがイマチニブに劣らない高い腫瘍抑制効果を有する可能性が示唆された。</p> <p>さらに、ニロチニブがイマチニブ耐性細胞株に対しても増殖抑制効果を有するかを検討した。GK1C、GK1C-IR、GK3C、GK3C-IRのニロチニブに対するIC₅₀は、GK1C 3.15±0.31μM、GK1C-IR 4.10±0.46μM、GK3C 3.32±0.18μM、GK3C-IR 3.94±0.19μMで野生株と耐性株の値は同等であり、イマチニブに耐性を示した腫瘍に対しても、ニロチニブは野生株と同様に増殖を抑制することが示された。</p> <p>ニロチニブは、in vivoでGISTの増殖抑制効果が示された。さらにin vitroでは、イマチニブ耐性株への効果も示され、イマチニブに耐性を示したGISTに対して、ニロチニブが次なる一手になりうると考えられた。</p>			