

Title	INHIBITION OF THE MKP-1 EXPRESSION POTENTIATES JNK RELATED APOPTOSIS IN RENAL CANCER CELLS.
Sub Title	腎癌細胞株におけるMKP-1阻害によるJNK関連アポトーシスの誘導
Author	水野, 隆一 (Mizuno, Ryuichi)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2004
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.81, No.4 (2004. 12) ,p.9-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20041202-0009">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20041202-0009</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

# INHIBITION OF THE MKP-1 EXPRESSION POTENTIATES JNK RELATED APOPTOSIS IN RENAL CANCER CELLS.

(腎癌細胞株におけるMKP-1阻害によるJNK関連アポトーシスの誘導)

水野 隆一

## 内容の要旨

腎細胞癌は化学療法、放射線療法に抵抗性であり、その治療は外科的切除が中心である。多発転移を有する症例や、術後再発例などいわゆる進行性腎細胞癌に対しては、インターフェロンやインターロイキン2を用いた免疫療法が行われているが、効果が見られるのは10-20%程度であり、新たな治療法の確立が望まれている。本研究においては、MAPKs経路によるアポトーシス誘導が新たな治療法となる可能性に着目し、腎細胞癌におけるJNK経路によるアポトーシス誘導とその経路におけるMKP-1の役割について検討した。

材料・方法：4種類の腎癌細胞株 (ACHN, Caki-1, 769P, KU20-01) を使用した。JNK関連アポトーシスの誘導のため、JNK活性化剤であるアニソマイシンを使用した。MAPKsを特異的に不活性化するとされているMKP-1がJNKのリン酸化を阻害しているのではないかと仮定し、MKP-1の阻害薬であるRo-318220を使用した。殺細胞効果の測定はアラマーブルー法にて行った。アポトーシス誘導の確認にはフローサイトメトリーによるTUNEL法、ヘキスト33258を用いた細胞形態の観察、アガロースゲル電気泳動によるDNA断片化の検出を行った。細胞内シグナルの変化の検出にはウエスタンブロット法を用いた。

結果：アニソマイシン投与によって、いずれの細胞株においてもJNKの一時的な活性化が見られたが、アポトーシス誘導は観察されなかった。Ro-318220投与によってCaki-1, KU20-01においてMKP-1の発現低下を認めた。アニソマイシンとRo-318220の同時投与によってCaki-1, KU20-01においてMKP-1の発現低下とJNKの持続的な活性化が観察された。両細胞株においてアポトーシス誘導が観察され、bcl-2およびbcl-xLの発現低下が認められた。このアポトーシス誘導にJNK経路が関与していることを確認するため、JNKの阻害剤であるJNK inhibitor Iを投与したところ、アニソマイシンとRo-318220の同時投与によるCaki-1, KU20-01における殺細胞効果は有意に抑制された。

考察・結論：本研究では、MKP-1が腎癌細胞においてERKよりむしろJNKを優位に阻害していることが示された。また、腎癌細胞におけるJNK関連アポトーシスの誘導にはJNKの持続的な活性化が必要であり、MKP-1はJNKのリン酸化を阻害することでアポトーシスを阻害していると推察された。JNK関連アポトーシスの誘導にはbcl-2ファミリーの関与が疑われた。本研究により、JNK経路によるアポトーシス誘導が、新たな腎癌治療となりうる可能性が示唆された。

## 論文審査の要旨

術後再発例を含むいわゆる進行性腎細胞癌に対しては、インターフェロンやインターロイキン2を用いた免疫療法が行われているが、その奏効率は15%程度であり、新たな治療法の確立が望まれている。本研究においては、MAPキナーゼ経路によるアポトーシス誘導が新たな治療法となる可能性に着目し、腎細胞癌におけるJNK経路によるアポトーシス誘導とその経路におけるMAPキナーゼホスファターゼ-1 (MKP-1) の役割について検討した。その結果、MKP-1が腎癌細胞においてERKよりむしろJNKを優位に阻害していることが示された。また、腎癌細胞におけるJNK関連アポトーシスの誘導にはJNKの持続的な活性化が必要であり、MKP-1はJNKのリン酸化を阻害することでアポトーシスを阻害していると推察された。腎細胞癌におけるJNK関連アポトーシスの誘導にはbcl-2ファミリーの関与が疑われた。本研究により、JNK経路によるアポトーシス誘導が、新たな腎細胞癌の治療となりうる可能性が示唆された。

審査では、まず本実験で用いたJNK活性化剤アニソマイシンおよびMKP-1阻害薬Ro-318220の作用機序について質問があり、前者は細胞にストレスを与えることでJNKカスケードを活性化し、後者はMKP-1の分解を促すのではなく転写を抑制することでその生成を阻害するとの説明がなされた。次いで腎癌細胞株においてMKP-1の発現とERKのリン酸化が亢進している原因につき質問された。これに対し、MAPKカスケードにおいてERKの上流にあるRaf-1等のキナーゼが亢進していることによりERKのリン酸化が亢進しており、同時にMKP-1の発現が促されている可能性が高い旨説明がなされた。細胞株による殺細胞効果の差については、MKP-1の発現の高い細胞株ほどJNKのリン酸化と殺細胞効果が強く、MKP-1はアポトーシスを阻害することで腎癌細胞の生存に寄与しているとの考えが述べられた。他のMKPファミリーの発現への関与についてはMKP-2, MKP-3の発現はほとんど見られなかったことが説明された。臨床例におけるMKP-1の発現に関しては、手術摘出標本40例を検討したところ約75%の症例で健常部に比して腫瘍部でのMKP-1の発現が亢進しており、進行癌より限局癌で発現が亢進している傾向があると説明がなされ、免疫染色や定量PCRによる評価が今後の検討課題とされた。さらには今後の臨床応用について質問がなされ、炎症性サイトカインやRNA interferenceなどの併用によるさらなる検討を続けるべきであるという助言がなされた。

以上、本研究は今後検討されるべき課題を残してはいるものの、JNK経路によるアポトーシス誘導が新たな治療法となりうる可能性が示唆された点で、今後の腎細胞癌の治療の発展に寄与し得る有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 泌尿器科学 村井 勝  
内科学 猿田 享男 病理学 坂元 亨宇  
先端医科学 河上 裕  
学力確認担当者：  
審査委員長：猿田 享男

試問日：平成16年10月19日