

主論文

The Selective Tyrosine Kinase Inhibitor, STI571, Inhibits Growth of Anaplastic Thyroid Cancer Cells

(甲状腺未分化癌細胞における選択的チロシンキナーゼ阻害剤 STI 571 の細胞増殖抑制効果)

Alexei Podtcheko、大津留 晶、津田 聡、難波 裕幸、ウラジミール・サエンコ、
中島 正洋、光武 範吏、神田 滋、紅林 淳一、山下 俊一

The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 88(4) :1889 - 1896, 2003

長崎大学大学院医学研究科生理系専攻
(指導教授: 山下 俊一 教授)

【緒言】

甲状腺未分化癌は極めて悪性度が高く、治療効果も乏しいことから、急速な進行と高い致死率を示している。癌抑制遺伝子の p53 変異率は 70 ~ 85% と報告されており、p53 遺伝子の変異は甲状腺分化機能の喪失と関連して、未分化癌の発生・進展に重要な役割を果たすと推測される。一方、c-ABL は非受容体型チロシンキナーゼであり、細胞核および細胞質の両方に存在し、細胞周期や DNA 損傷ストレス反応経路の制御を司る因子の一つである。c-ABL と p53 の両方を欠く線維芽細胞は、p53 単独欠損線維芽細胞や正常線維芽細胞と比較して、培養系における細胞増殖率が極端に低下することが報告された。このことより p53 の欠損もしくは変異した未分化・低分化甲状腺癌細胞においても、c-ABL 活性を抑えることが、癌細胞の増殖を抑制できるのではないかと仮説が考えられた。現在、慢性骨髄性白血病などで極めて有効な分子標的治療薬として用いられている STI571 は、BCR/ABL、c-ABL、platelet-derived growth factor (PDGF) 受容体および c-KIT のチロシンキナーゼ活性を選択的に抑制する。そこで STI571 が、p53 の欠損あるいは変異した甲状腺未分化癌細胞株の増殖を選択的に抑制するか否かを検索し、臨床治療へ応用可能かどうかの基礎的検討を行った。

【対象と方法】

細胞株はヒト甲状腺未分化癌細胞株 FRO(undetectable p53)、ARO(mutated p53 in codon 273) と、甲状腺乳頭癌細胞株より NPA(mutated p53 in codons 223 and 226) と TPC-1、KTC-2(いずれも野生型 p53) を用いた。また、FRO に対して野生型 p53 を遺伝子導入を行った 1F3 細胞株を対照として用いた。c-ABL、PDGF 受容体、c-KIT の遺伝子発現は RT-PCR 法、ウエスタンブ

ロットティング法、免疫組織化学染色法を用いて評価し、STI571 の効果を評価した STI57 の細胞株増殖抑制効果を調べるために WST アッセイおよび細胞数計測を行った。マウスに FRO 細胞を移植し、腫瘍を形成させ、in vivo における STI571 の腫瘍抑制効果を評価した。

【結果】

野生型 p53 を有する甲状腺癌細胞株と比較して、甲状腺未分化癌細胞株である ARO と FRO は、10 μ M 以下の濃度の STI571 処理により、著明な細胞増殖抑制効果を認めた。c-ABL は ARO と FRO 両細胞株において高レベルで発現していたのに対して、野生型の p53 を有する甲状腺癌細胞株では低レベルであった。さらに野生型 p53 を遺伝子導入した 1F3 では、c-ABL の発現が低下した。一方、他の STI571 感受性チロシンキナーゼの発現は各細胞株間で異なっており、STI571 の細胞増殖抑制効果との関連は認めなかった。ヒト腫瘍組を用いた免疫組織学的解析でも c-ABL は未分化癌で高発現しており、他の腫瘍や正常甲状腺細胞の発現は低かった。FACS 解析では S 期及び G2/M 期での細胞周期停止が認められた。ウエスタン・ブロット解析では、STI571 処理により c-ABL のリン酸化および活性化の障害がもたらされ、p21cip1 と p27kip1 の発現が増加した。それに伴い cyclin A、B1、CDC2 の発現は減少した。免疫不全マウスに移植した FRO 腫瘍は STI571 投与によって有意に増殖が阻害された。

【考察】

本研究において p53 に変異を有する甲状腺未分化癌細胞株 FRO と ARO、及び分化癌細胞株 NPA は STI571 により細胞増殖抑制が見られたのに対し、p53 の変異を有しない分化癌細胞株 KTC-1、TPC-1、1F3 では細胞増殖抑制効果は認められなかった。STI571 による細胞増殖抑制は、PDGF 受容体や c-KIT ではなく、c-ABL のリン酸化抑制を介するものと考えられた。また細胞増殖抑制機序は p21cip1 と p27kip1 増加と、それに引き続く cyclin A、B1、CDC2 発現レベル低下によると考えられた。STI571 処理が何故未分化癌においては p21cip1 と p27kip1 の発現を上昇させるか、その詳細は不明であるが、我々や他のグループの研究を総合すると、p53 に変異のある癌細胞では c-ABL PKC- MKK7 JNK のシグナルカスケードの活性化を生じ、その結果 p21cip1 や p27kip1 の発現が低下することが推測された。またこの治療効果は、ヒト甲状腺未分化癌を免疫不全マウスに移植した in vivo の系においても証明された。よって、STI571 による上記シグナルの遮断は、甲状腺未分化癌の治療戦略上、重要な意義があると考えられた。今回の研究により、現在まったく有効な治療法がない甲状腺未分化癌や一部の低分化癌に対して、STI571 を中心とする分子標的治療の有効性を明らかにすることができた。