

論文内容の要旨

Functional inhibition of heat shock protein 70 by VER-155008 suppresses pleural mesothelioma cell proliferation via an autophagy mechanism

ヒートショックプロテイン 70 の機能を阻害する VER-155008 によるオートファジー機構を介した胸膜中皮腫の細胞増殖抑制

日本医科大学大学院医学研究科 呼吸器内科学分野
大学院生 坂井 浩佑

Thoracic Cancer 2021 年 掲載予定

【背景】

胸膜中皮腫は予後不良な疾患で今後も患者数増加が予想されており、新規治療法の確立が喫緊の課題となっている。ヒートショックプロテイン (heat shock protein : HSP) は、熱などの種々のストレスに応答して誘導され、タンパクの立体構造・機能を維持することで細胞を保護する分子シャペロンである。Wnt シグナル伝達体である *dishevelled-3* の抑制により胸膜中皮腫の細胞増殖は抑制されるが、HSP70 の発現低下がこの増殖抑制に関与している可能性がある。HSP70 は細胞内シグナル伝達への関与も報告されており、胸膜中皮腫における HSP70 の役割の解明は新規治療法の開発に繋がることが期待される。

【目的】

胸膜中皮腫細胞株における HSP70 阻害による腫瘍増殖への影響を検討することを目的とした。HSP70 阻害薬と既存治療薬の併用による有効性を検討し、HSP70 に関連する細胞維持機構を解明することで新規治療標的を探索する。

【方法】

胸膜中皮腫細胞株 211H、H2452、H28、HSP70 阻害薬として VER-155008 を使用した。水溶性テトラゾリウム塩還元反応、コロニー形成能により細胞増殖を評価し、フローサイトメトリーにより細胞周期の解析を行った。細胞増殖に関わるタンパク発現をウエスタンブロットにより評価した。シスプラチンまたはゲフィチニブと VER-155008 併用による細胞増殖抑制効果を検討した。レトロウイルスを用いてプラスミド pMRX-IP-GFP-LC3-RFP-LC3ΔG を細胞株に導入し、蛍光顕微鏡による観察及びフローサイトメトリーによりオートファジーを評価した。VER-155008 または PI3K/Akt/mTOR 経路阻害薬であるゲフィチニブのオートファジーへの影響を、ウシ胎児血清 (FBS) を含む状態と含まない飢餓状態において検討した。

【結果】

VER-155008 投与により 211H、H2452、H28 の細胞増殖は抑制された。IC₅₀ 値は、211H 2.2μM、H2452 1.5μM、H28 3.1μM であった。3 細胞株とも VER-155008 (20 μM) によりコロニー形成は抑制された。VER-155008 は 211H および H28 の細胞周期を G₁ 期で静止させたが、H2452 では同様の結果は得られなかった。ウエスタンブロットでは p-Akt/Akt の減少を認めた。VER-155008 とシスプラチンまたはゲフィチニブとの併用において抗腫瘍効果の増強は認められなかった。プラスミド pMRX-IP-GFP-LC3-RFP-LC3ΔG を導入した細胞株では、VER-155008 またはゲフィチニブ投与により GFP と結合した LC3 の減少が蛍光顕微鏡及びフローサイトメトリーにて観察され、オートファジー亢進が定量的に示された。飢餓状態の細胞では、VER-155008 投与は相加的なオートファジーの亢進を示したが、ゲフィチニブの投与では示されなかった。ゲフィチニブ単独投与に対して、ゲフィチニブ及び VER-155008 併用では、FBS 有無に関わらず有意にオートファジーは亢進していた。

【考察】

本研究により、HSP70 阻害はオートファジー亢進を伴って胸膜中皮腫の細胞増殖を抑制していることを明らかにした。オートファジー発現は細胞増殖に必要な糖及びタンパクの供給源となって腫瘍化した細胞を維持・保護する作用があるとされているが、一方ではオートファジーに関連した細胞死も提唱されている。また HSP70 は Akt リン酸化に関与してオートファジーを調節していると報じられている。しかしながら、VER-155008 とゲフィチ

ニブ併用では細胞増殖とオートファジーへの影響は異なっていたことから、HSP70 阻害は PI3K/Akt/mTOR 経路以外の機構によって細胞障害性に作用するオートファジーを誘導している可能性が示唆された。

【結論】

HSP70 阻害による抗腫瘍効果や細胞障害性を有するオートファジーに着目することで胸膜中皮腫の新規治療開発につながる。