



Nagoya City University Academic Repository

学位の種類	博士 (医学)
報告番号	甲第1521号
学位記番号	第1092号
氏名	溝口 公士
授与年月日	平成 28年 3月 25日
学位論文の題名	Induction of apoptosis by eicosapentaenoic acid in esophageal squamous cell carcinoma (食道扁平上皮癌におけるエイコサペンタエン酸によるアポトーシスの誘導) Anticancer Research Dec-34(12):7145-9 2014
論文審査担当者	主査： 城 卓志 副査： 高橋 智, 竹山 廣光

論文内容の要旨

【背景】食道扁平上皮癌は悪性度の高い癌であり、欧米に比し、日本をふくむアジアにて発生が多い。5年生存率は治癒切除を行っても20–30%程度である。早期に発見したとしても多くの場合、局所再発や遠隔転移が術後早期に発生することがある。近年食道扁平上皮癌において栄養療法が注目されており、栄養状態を良好に保つことで高い治療効果が得られると考えられている。とりわけ、オメガ3多価不飽和脂肪酸であるエイコサペンタエン酸（以下EPA）には抗炎症作用や、大腸癌細胞株、膵癌細胞株や乳癌細胞株において細胞増殖抑制効果があると考えられている。しかし食道癌細胞株に関しては報告例がほとんどない。そこで我々は栄養療法としてEPAを用いることで、良好な栄養状態を保ち、さらに癌細胞増殖抑制効果をもたらす新しい治療法の確立ができるのではないかと考え、食道癌細胞への細胞増殖抑制効果について検討した。

【方法】食道扁平上皮癌細胞株であるTE11とKYSE180に対するEPAの増殖抑制効果を見るために、食道癌細胞株TE11およびKYSE180にEPAを作用させて、24時間培養した。EPA濃度は0.1 μ M、1 μ M、10 μ Mとした。細胞増殖試薬WST-1を用いて検討した。EPAのアポトーシス誘導については、食道癌細胞株TE11およびKYSE180にEPAを24時間作用させて、DNA断片化を定量的に検出するイムノアッセイキットを用いて評価した。さらに、アポトーシスに関連するタンパク（Caspase-3、-7、-9、Poly (ADP-ribose) polymerase（以下PARP）とcleaved Caspase-3、-7、-9、cleaved PARP）に関してWestern Blottingを用いて解析した。

【結果】TE11およびKYSE180を培養し、EPAを24時間作用させたところ、濃度依存性に細胞増殖が抑制された。また、TE11、KYSE180にEPAを24時間作用させるとDNA断片化を濃度依存性に認めた。EPAの作用によりKYSE180においてアポトーシス関連蛋白（Caspase-3、-7、-9、PARP）は活性化された。

【考察】EPAはオメガ3系多価不飽和脂肪酸の一つであり、抗腫瘍作用や抗炎症作用をもつ。近年アポトーシスを誘導するとの報告が散見されるが、我々は食道扁平上皮癌細胞株においてEPAがアポトーシスを誘導することを示した。食道扁平上皮癌細胞株においては他にはあまり報告がない。EPA濃度を0.1 μ Mから10 μ Mまでとしたが、他者の報告ではさらに高濃度を必要とするときもある。最適な濃度については、今後さらなる検討が必要と考える。アポトーシス関連蛋白の発現についてはその代表的なタンパクであるCaspaseに関して活性化を示しており、EPAによりアポトーシスが誘導されることが示された。

EPAの癌細胞に対する働きはすべて明らかにはなっていないが、集学的治療が必要な食道癌においては経過中に栄養状態を良好に保つことが、治療成績の向上につながることはあきらかで、EPAを用いた栄養療法が食道癌に対する現在の治療、すなわち、手術療法、放射線療法、化学療法に加え、新たな治療手段となる可能性があると考えられる。

【結語】EPAの食道扁平上皮癌に対する作用はまだ十分に明らかになったわけではないが、我々の実験結果より、抗腫瘍効果をもつことが示唆され、それにはアポトーシスが関与している可能性が示唆された。栄養学的な観点からも、EPAは食道癌治療における、重要な役割を果たす可能性がある。

論文審査の結果の要旨

本論文の背景として、食道扁平上皮癌はとても悪性度が高く、欧米に比し、日本をふくむアジアにて発生が多いことがまず挙げられる。5年生存率は治癒切除を行っても20-30%程度である。早期に発見したとしても多くの場合、局所再発や遠隔転移が術後早期に発生することがある。近年食道扁平上皮癌において栄養療法が注目されている。栄養状態を良好に保つことで高い治療効果が得られると考えられる。オメガ3多価不飽和脂肪酸であるエイコサペンタエン酸（以下 EPA）には抗炎症作用や、数種類の癌腫において細胞増殖抑制効果があると考えられているが、食道癌細胞株に関しては報告例がほとんどなかった。栄養療法として EPA を用いることで、良好な栄養状態を保ちさらに癌細胞増殖抑制効果をもたらす新しい治療法の可能性について検討された。

【方法】食道扁平上皮癌細胞株である TE11 と KYSE180 に対する EPA の増殖抑制効果を見るために、細胞増殖試薬 WST-1 を用いて検討された。EPA のアポトーシス誘導については、DNA 断片化を定量的に検出するイムノアッセイキットを用いて評価された。さらに、アポトーシスに関連するタンパク（Caspase-3、-7、-9、Poly (ADP-ribose) polymerase (以下 PARP) と cleaved Caspase-3、-7、-9、cleaved PARP) に関して Western Blotting を用いて解析された。

【結果】TE11 および KYSE180 を培養し、EPA の作用で、濃度依存性に細胞増殖が抑制された。また、TE11、KYSE180 に EPA を用させると DNA 断片化を濃度依存性に認めた。EPA の作用により KYSE180 においてアポトーシス関連蛋白（Caspase-3、-7、-9、PARP）は活性化された。

【考察】本論文は、食道扁平上皮癌細胞株において EPA がアポトーシスを誘導することを示した。食道扁平上皮癌細胞株においては他にはあまり報告がない。アポトーシス関連蛋白の発現についてはその代表的なタンパクである Caspase に関して活性化を示された。EPA の癌細胞に対する働きはすべて明らかにはなっていないが、集学的治療が必要な食道癌においては経過中に栄養状態を良好に保つことが、治療成績の向上につながることはあきらかで、EPA を用いた栄養療法が食道癌に対する現在の治療、すなわち、手術療法、放射線療法、化学療法に加え、新たな治療手段となる可能性がある。

【結語】EPA の食道扁平上皮癌に対する作用はまだ十分に明らかになったわけではないが、本論文の実験結果より、抗腫瘍効果をもつことが示唆され、それにはアポトーシスが関与している可能性が示唆された。栄養学的な観点からも、EPA は食道癌治療における、重要な役割を果たす可能性がある。

【審査の内容】約 15 分間のプレゼンテーションの後に、主査の城教授からは、アポトーシスをきたすメカニズムは何かなど 8 項目、第一副査の高橋教授からは、この実験で使われた EPA 濃度は生体で実現可能かなど 15 項目の質問がなされた。竹山教授からは食道癌の外科治療における最近の進歩についてなど 2 項目の質問がなされた。一部返答に窮することもありましたがおおむね満足できる回答があり、学位論文の主旨を十分理解していると考えられた。本研究は食道癌細胞株を用い、 ω -3 系脂肪酸の EPA が細胞増殖を抑え、アポトーシスをきたすことを報告した。今後の臨床応用が期待できる意義ある知見と考えられた。よって本論文の著者には博士（医学）の学位を授与するに値すると判断した。

論文審査担当者 主査 城 卓志 副査 高橋 智 竹山廣光