

Anti-tumor activity of the small molecule inhibitor PRI-724 against β -catenin-activated hepatocellular carcinoma

著者	蒲田 亮介
著者別表示	GABATA Ryosuke
journal or publication title	博士論文要旨Abstract
学位授与番号	13301甲第5232号
学位名	博士（医学）
学位授与年月日	2020-12-31
URL	http://hdl.handle.net/2297/00064782

doi: <https://doi.org/10.21873/anticancerres.14524>



論文内容の要旨及び審査結果の要旨

受付番号 医薬保博甲第427号 氏名 蒲田亮介

学位請求論文

題名 Anti-tumor activity of the small molecule inhibitor PRI-724 against β -catenin-activated hepatocellular carcinoma

掲載雑誌名 Anticancer Research 第40巻 第9号 5211~5219頁
2020年9月掲載

肝細胞癌(肝癌)は複数の遺伝子変異と慢性持続性炎症に起因し、なかでも変異 β -カテニンの核蓄積は頻りに観察される。Wnt経路で活性化された β -カテニンはT-cell factor(Tcf)と複合体を形成し、転写コアクチベーターのcAMP応答要素結合(CREB)結合タンパク質(CBP)あるいはp300に結合して標的遺伝子発現を誘導することで、それぞれ細胞増殖あるいは分化を促進させる。本研究で着目した低分子化合物PRI-724は生体内で活性化型C-82に代謝されたのち、 β -カテニン/Tcf複合体とCBPの相互作用を選択的に阻害し、Wnt経路による転写を停止させる。そこで本研究は、 β -カテニン活性化型ヒト肝癌症例の特徴と、ヒト肝癌細胞株に対するC-82の効果を検討した。

肝癌199症例の切除腫瘍組織と肝癌細胞株HepG2、Huh6、Huh7、Huh28、JHH2、JHH5のセルブロットにおける β -カテニン、CBP、p300の発現を免疫組織化学的に検討した。HepG2とHuh6細胞を対象に、 β -カテニン、CBP、p300の発現(免疫染色)、細胞増殖(WST-1アッセイ)、細胞周期(フローサイトメトリー)および関連分子の発現(Western blotting)に対するC-82の作用を解析した。

肝癌199例中36例(18%)に β -カテニンの核集積(活性化)を認めた。 β -カテニン活性化腫瘍の直径は陰性例よりも有意に大きかった。CBPとp300は β -カテニン核集積の有無に関わらず、すべての症例で核に発現を認めた。6種類の肝癌細胞のうちHepG2とHuh6細胞の90%以上で β -カテニン核集積を認めたため、C-82の効果解析には両細胞株を用いた。これらの細胞にC-82を作用させても、 β -カテニンの核集積やCBPとp300の発現は変化しなかった。C-82は濃度依存的にこれらの細胞の増殖を抑制し、細胞周期ではG0/G1期の分画を増加させた。細胞周期関連分子の発現を調べると、C-82によりp21^{Waf1/Cip1}の発現が増加し、c-MycとSkp2の発現が減少した。また、poly(ADP-ribose) polymerase(PARP)、cleaved caspase-3、7の発現が増加し、survivinの発現が減少した。

本研究の結果から、PRI-724活性型代謝産物C-82による β -カテニン/TcfとCBPの相互作用の選択的阻害は、肝癌における細胞周期のG0/G1期停止と、アポトーシスを誘導することが示された。そして、PRI-724は β -カテニン活性化型肝細胞癌に対する新規薬剤(プロドラッグ)となる可能性が示唆された。

以上の内容要旨より、本研究は β -カテニン活性化を示す肝細胞がんの病態の一端を解明するとともに、 β -カテニン/Tcf複合体とCBPの相互作用を標的とする新たな治療戦略の方向性と基盤を提供する重要な成果を示したものであり、学位に値すると評価された。