



Title	抗がん剤の副作用と耐性化に着目したcyclooxygenase阻害薬の効果の検証 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	岡本, 敬介
Citation	北海道大学. 博士(臨床薬学) 甲第14408号
Issue Date	2021-03-25
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/81514
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Keisuke_Okamoto_abstract.pdf (論文内容の要旨)



[Instructions for use](#)

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士(臨床薬学) 氏名 岡本 敬介

学位論文題名

抗がん剤の副作用と耐性化に着目した cyclooxygenase 阻害薬の効果の検証

抗がん剤であるシスプラチン (CDDP) は肺がん、胃がん、頭頸部がんなど、様々ながん腫に対して使用されるキードラッグであり、DNA への結合や活性酸素種の産生により抗腫瘍効果を示す。一方で、CDDP による重大な副作用の 1 つとして CDDP 起因性腎障害 (CIN) があり、約 30% の頻度で出現する。CIN は用量制限毒性であり、薬物療法の減量・中断の原因となることから、CIN の予防・軽減は重要である。

非ステロイド性抗炎症薬 (NSAIDs) は cyclooxygenase を阻害することで抗炎症作用を示す薬剤の総称である。世界保健機関は、がんの浸潤や転移に伴う痛みであるがん疼痛について、軽度の症状に対し NSAIDs の投与を推奨していることから、抗がん剤と NSAIDs は臨床現場において併用投与される。

一部の NSAIDs には抗腫瘍効果を有することが報告されており、NSAIDs と CDDP との組み合わせにより、CDDP の抗腫瘍効果を高めることが期待される。しかしながら、当研究室が行った後ろ向き観察研究において、NSAIDs の併用が CIN のリスク因子となることを明らかとしており、CDDP の抗腫瘍効果の増強を期待した NSAIDs の併用投与には CIN が問題となる。一方で、本結果はセカンダリーエンドポイントでの評価であることから、併用された NSAIDs の種類が不明であり、NSAIDs の中でも CDDP 投与患者に安全に投与できるものが存在する可能性がある。本研究では、CDDP を用いたがん薬物療法の最適化を目的とし、CIN を増強させない NSAIDs、及び CDDP の抗腫瘍効果を高める NSAIDs を探索し、有効性を検証することとした。

1. CIN を増強させない NSAIDs の探索

NSAIDs の併用が CIN のリスク因子となる報告は複数あるものの、全てが後ろ向き観察研究かつセカンダリーエンドポイントでの評価であり、エビデンスレベルが低いのが現状である。したがって、既報を包括的に評価できるメタアナリシスにより、NSAIDs の併用が CIN のリスク因子となるかを評価した。スクリーニングの結果、7 報の論文が抽出され、これら論文を解析した結果、オッズ比が 1.88、95% 信頼区間が 1.44-2.45 であったことから、NSAIDs の併用が CIN のリスク因子となることが明らかとなった。一方で、併用された NSAIDs の種類が不明であったことから、基礎研究により NSAIDs が CIN へ及ぼす影響を評価した。ラット正常腎上皮細胞株である NRK-52E 細胞を用い、CDDP と 17 種類の NSAIDs を同時添加した結果、CDDP の細胞障害をフルルビプロフェンは増強、ジクロフェナクを含むいくつかの NSAIDs は増強させない、セレコキシブは軽減させることが明らかとなった。また、これら影響の機序には抗酸化作用やオートファジーが関与していることを見出した。さらに、*in vitro* の結果が生体内でも同様に効果を示すかを明らかにするため、ラットを用い、腎障害マーカーの 1 つである kidney injury marker 1 (Kim-1) の mRNA 量を評価した。その結果、CDDP 投与により発現が上昇した Kim-1 はフルルビプロフェン併用投与によりさらに増大し、セレコキシブ併用投与により減少することが明らかとなった。以上の結果より、NSAIDs の中には CIN

を増強、及び軽減させる作用を有するものがあることを見出した。

2. CDDP の抗腫瘍効果を高める NSAIDs の探索

抗がん剤薬物療法において、がん細胞が抗がん剤耐性を獲得することにより、がん治療の妨げとなることから、最適な薬物療法の遂行には耐性獲得の回避が必須となる。先述の通り、NSAIDs には CDDP の抗腫瘍効果を高める可能性があることから、本検討では CDDP 耐性の有無に関わらず抗腫瘍効果を示す NSAIDs を探索することとした。検討を行うにあたり、ヒト肺腺がん細胞株である A549 細胞とヒト小細胞肺がん細胞株である SBC-3 細胞を用い、CDDP 長期曝露による CDDP 耐性株の樹立を行った。その結果、CDDP の殺細胞効果に対し、CDDP 耐性 A549 細胞 (A549/DDP 細胞) は 2.08 倍、CDDP 耐性 SBC-3 細胞 (SBC-3/DDP 細胞) は 3.68 倍の抵抗性を示した。また、A549/DDP 細胞では CDDP 耐性機構の 1 つである sex determining region Y-box 2 (SOX2) 発現が上昇し、SBC-3/DDP 細胞では同じく CDDP 耐性機構の 1 つである cystine/glutamate transporter (xCT) 発現と機能が上昇しており、異なる CDDP 耐性機構を有する 2 種類の CDDP 耐性肺がん細胞株の樹立に成功した。これら細胞に 17 種類の NSAIDs を添加したところ、セレコキシブ、ジクロフェナク、フルフェナム酸、メフェナム酸が CDDP 耐性に関わらず殺細胞効果を示した。また、CDDP と NSAIDs を同時添加したところ、ジクロフェナク、フルフェナム酸、メフェナム酸は CDDP の殺細胞効果を相加的に高めることが示唆された。一方で、単剤で殺細胞効果を示したセレコキシブは、xCT の発現、及び機能を上昇させることで CDDP に対する抵抗性を高めることが明らかとなった。

がん幹細胞 (CSCs) は腫瘍組織に 0.01–1% 存在し、自己複製能、腫瘍形成能、抗がん剤耐性を有している。抗がん剤が腫瘍を攻撃した際、がん細胞が消滅しても CSCs が残存する場合、がんが再発すると言われていることから、NSAIDs ががん細胞だけではなく CSCs にも効果を示すかを検証した。CSCs への影響を網羅的かつ簡便に評価できる Sphere Formation Assay により、NSAIDs が CSCs に及ぼす影響を評価した結果、A549/DDP 細胞と SBC-3/DDP 細胞のスフェロイドにおいてセレコキシブ、ジクロフェナク、フルフェナム酸、メフェナム酸は単剤で効果を示すことが明らかとなった。また、これら 4 剤は CDDP の CSCs に対する効果を相加的に高めることが示唆された。以上の結果より、NSAIDs には CDDP の殺細胞効果を高める作用を有するものがあることを見出した。

3. CDDP-NSAIDs の治療効果・副作用の同時評価

これまでの検討により、ジクロフェナクは CIN を増強させずにがん細胞、及び CSCs において CDDP の抗腫瘍効果を高める可能性があり、また、セレコキシブは CIN を軽減させ、かつ CSCs において CDDP の抗腫瘍効果を高める可能性が見出された。これら NSAIDs が CIN と CDDP の抗腫瘍効果に及ぼす影響を同時に評価するため、A549/DDP 細胞をヌードマウスに移植した Xenograft モデルを構築した。検討の結果、ジクロフェナクとセレコキシブは、CDDP 投与により発現が上昇した Kim-1 に対し影響を及ぼさないことが示された。また、CDDP とジクロフェナクの併用投与はコントロールと比較して有意に腫瘍サイズと腫瘍重量を減少させており、CDDP の抗腫瘍効果を高めることが明らかとなった。一方で、セレコキシブ併用投与は CDDP の抗腫瘍効果を軽微に減弱させることが示唆された。以上の結果より、ジクロフェナクは CIN を増強させずに CDDP の抗腫瘍効果を高める NSAIDs であることを見出した。

総括

本研究により、CDDP 投与患者でも安全に使用できる NSAIDs を見出したことから、がん患者の QOL の向上につながると考えられる。また、がん疼痛の軽減と CDDP の抗腫瘍効果の向上を同時に得られるジクロフェナクは CDDP を用いたがん薬物療法において重要な NSAIDs であると考えられる。