

論文内容の要旨

論文提出者氏名 名幸 義仁

論文題目

Enhancement of the cytotoxic effects of hypotonic solution using a chloride channel blocker in pancreatic cancer cells

論文内容の要旨

膵癌患者の予後は一般的に不良であり、5年生存率は5%未満である。高い死亡率の要因の一つとして、術後早期に肝転移、腹膜播種、局所再発などの再発をきたす事が挙げられる。その中で、腹膜播種は予後に最も重要な因子となるため、制御方法の確立が膵癌術後治療における課題の一つである。原発巣から浮遊した癌細胞は、腫瘍化する可能性があり、効果的な腹腔内洗浄は膵癌初回手術において腹膜播種制御の観点から臨床的に重要である。これまでにいくつかの論文で腫瘍細胞における蒸留水殺細胞効果について報告されており、我々も以前に蒸留水による極低浸透圧が、食道癌、胃癌細胞をいずれも5分以内に細胞断片化を増大させた事を報告した。しかしながら、膵癌細胞における蒸留水殺細胞効果を検証した報告例は認めていない。この研究において、私達は、蒸留水が膵癌細胞の細胞容積増加に続いて細胞破壊をもたらす事を示し、再培養実験で、膵癌細胞株における蒸留水殺細胞効果を証明した。さらに、Cell Lab Quantaを用いて、膵癌細胞株において様々な浸透圧下での連続細胞容積変化を調べ、蒸留水(0 mosmol/kg H₂O)における細胞断片化を認めた一方で、ゆるやかな浸透圧下では一旦膨化した後の調節性容量減少(regulatory volume decreases:RVD)現象を観察した。これらの結果は、膵癌細胞の断片化には極端な低浸透圧が必要とされる事を示していた。我々は以前に、術中の腹腔内洗浄液の浸透圧は50 mosmol/kg H₂O前後であった事を報告している。これは腹腔内蒸留水洗浄は、腹腔内分泌物や多くの細胞により汚染されている事を示しており、Huguet と Keelingもまた、同様の報告をしている。これらの報告は蒸留水腹腔内洗浄の殺細胞効果は、臨床状況において減弱している可能性を示唆している。術中の腹腔内洗浄の浸透圧増加の問題を解決するために、我々は低浸透圧溶液の殺細胞効果の強化を考えた。以前の報告でクロライドイオンの流出は低浸透圧刺激時におけるRVDの主要なメカニズムであり、細胞の多くのタイプにおいてクロライドチャンネルブロッカーである5-nitro-2-(3-phenylpropylamino)-benzoic acid:NPPBがRVDを抑制することを示した。それゆえ、低浸透圧溶液により引き起こされた細胞膨化を増強するために、膵癌細胞株にクロライドチャンネルブロッカーを用いた実験を試みた。NPPBは非選択的クロライドチャンネルブロッカーとして知られており、NPPBを使用した理由は、細胞内クロライドイオンの流出を抑制するために全てのクロライドイオンチャンネルをブロックする必要があったためであ

る。この研究において、3つの膵癌細胞株間に有効性に差はあったが、NPPBは低浸透圧刺激時に全ての細胞膨化を促進し、すべての細胞において低浸透圧溶液の殺細胞効果を増強した。これらの発見は、膵癌細胞のRVDにおいて、クロライドイオンチャンネル活性は主なメカニズムであり、低浸透圧刺激時のクロライドチャンネル抑制は、細胞膨化を増強し殺細胞効果を増大させる事を示している。また、細胞容積調節は、低浸透圧刺激の殺細胞効果の基礎となる主なメカニズムである事を示唆している。近年、様々な癌腫に発現しているイオンチャンネル数の急速な増加が知られており、いくつかのイオンチャンネルは活動性癌において選択的に発現し、本質的に転移に関与していると報告されている。特にクロライドイオンチャンネル/輸送体が、癌細胞に重要な役割を果たしている報告をいくつか認める。私達は以前に、ナトリウム、カリウム、クロライド共輸送体(NKCC)のmRNAと機能的発現レベルが、胃癌細胞の低分化細胞において他の分化細胞より、高い事を報告した。本研究は、膵癌細胞におけるクロライドチャンネル活性に焦点をあて、個々の膵癌患者のクロライドチャンネルの理解が、クロライドチャンネル活性の調節による殺細胞効果増強を予測できる手助けになる可能性を示唆している。