

学 位 論 文 要 旨

研究題目 Itraconazole increases resolvin E3 concentration and 12/15-lipoxygenase inhibitor attenuates Itraconazole cytotoxicity in cervical cancer cells

(子宮頸癌細胞においてイトラコナゾールはレゾルビン E3 濃度を上昇させ、12/15-リポキシゲナーゼ阻害剤はイトラコナゾールの細胞毒性を減弱させる)

兵庫医科大学大学院医学研究科

医科学専攻

器官・代謝制御系

産科学婦人科学 (指導教授 柴原 浩章)

氏 名 磯野 路善

【目的】イトラコナゾール (ITZ) の抗がん作用のメカニズムはまだ解明されていない。そこで我々は、ITZ により誘導されるがん細胞内の specialized pro-resolving mediators (SPM) の変化を調べた。

【材料と方法】ヒト子宮頸部扁平上皮癌細胞株 CaSki を、 $1\mu\text{M}$ の ITZ を添加または添加しない状態で培養した。液体クロマトグラフィー/質量分析法 (LC-MS/MS) を用いて、ITZ の影響を受けた SPM を包括的に検討した。ITZ 投与により 2 倍以上の質量変化を示す SPM を、ITZ がその代謝経路を標的としている候補 SPM とした。次に候補 SPM の代謝経路に対する阻害剤を用いて、細胞増殖抑制実験を行った。候補となった resolvin E3 の阻害アッセイには、18 ヒドロキシエイコサペンタエン酸 (18-HEPE) のオメガ 3 水酸化経路に対する、12/15-リポキシゲナーゼ (LOX) 阻害剤 ML351、5-LOX 阻害剤 zileuton を用いた。また、別の候補である PGJ2 およびその誘導体である delta-12-PGJ2 に対しては、リポカリン型プロスタグランジン D 合成酵素 (L-PGDS) の阻害剤である AT-56 を用いた。細胞生存率は、Premix WST-1 Cell Proliferation Assay System を用いて評価した。細胞を WST-1 と 2 時間培養しホルマザン生成物をマイクロプレートリーダーで 450nm の吸光度を測定して評価した。

【結果】SPM 候補として resolvin E3、resolvin E2、プロスタグランジン J2 (PGJ2)、デルタ-12-PGJ2、Maresin 2 が抽出された。18-HEPE の resolvin E3 への変換に関与する ML351 は、単独では CaSki 細胞の増殖に影響を与えなかったが、ITZ との共培養により ITZ の増殖抑制効果を減弱した。一方、zileuton は増殖に影響しなかった。AT-56 は単独で添加すると細胞増殖が促進されたが、ITZ との共培養では ITZ の細胞増殖抑制効果には影響を与えなかった。

【結論】LC-MS/MS 分析により、ITZ が resolvin E3 の迅速な産生を誘導することを明らかにした。18-HEPE を resolvin E3 に変換する酵素を阻害すると ITZ の抗がん作用が抑制されることがわかった。ITZ の抗がん作用は、PGJ2 および Δ 12-PGJ2 の代謝経路を介したものではないことが示唆された。