

(論文博士) (様式 7)

鈴木 景子 氏から学位申請のため提出された論文の審査要旨

題 目

主論文: Local anesthetic lidocaine-inducible gene, growth differentiation factor-15 suppresses the growth of cancer cell lines

(局所麻酔薬リドカインにより誘導される GDF-15 遺伝子は癌細胞株の増殖を抑制する)

Scientific Reports 12;14520. 2022 年

Keiko Haraguchi-Suzuki, Reika Kawabata-Iwakawa, Toru Suzuki, Takashi Suto, Tomonori Takazawa, Shigeru Saito

副論文: Local anesthetic lidocaine induces growth suppression of HeLa cells by decreasing and changing of the cellular localization of the proliferation marker Ki-67

(局所麻酔薬リドカインは増殖マーカーKi-67 の減少と局在を変化させることにより、子宮頸癌 HeLa 細胞の増殖を抑制する)

Genes to Cells 11; 675-684. 2022 年

Keiko Haraguchi-Suzuki, Reika Kawabata-Iwakawa, Toru Suzuki, Takashi Suto, Tomonori Takazawa, Shigeru Saito

論文の要旨及び判定理由

【主論文】本研究は局所麻酔薬リドカインを4種の癌細胞株へ投与し、これら細胞株の増殖が抑制され、一部の細胞ではアポトーシスを誘導することを示した。リドカインによる増殖抑制効果を解析するため、次世代シーケンサーを用いたRNAシーケンス法により、リドカイン投与後の癌細胞株において、発現量が増加する遺伝子を網羅的に探索し、癌細胞株に共通して発現が上昇する遺伝子として腫瘍抑制効果を持つGrowth differentiation factor (GDF)-15 遺伝子とアポトーシスを誘導するTribbles homologue (TRIB) 3遺伝子を同定した。定量PCR 法およびWestern blot法により、リドカイン投与後の子宮頸癌HeLa細胞において、リドカイン濃度依存的にGDF-15とTRIB3の発現が増加することを示した。また、GDF-15は完全型のほか、N末端が切断される成熟型が存在するが、Western Blot法によりリドカインにより誘導されるGDF-15は腫瘍抑制に重要とされる完全型であり、増加した完全型GDF-15は細胞外に分泌され、HeLa細胞の増殖抑制と相関することを示した。さらに、siRNA法を用いた発現抑制実験により、完全型GDF-15やTRIB3の発現を抑制すると、リドカインによるHeLa細胞の増殖抑制やアポトーシスが低下したことから、リドカインはGDF-15およびTRIB3の発現を誘導するにより癌細胞株の増殖を抑制することを示した。

【副論文】本研究は主論文において、リドカインを投与した癌細胞株において発現が低下する遺伝子として同定したMKI67遺伝子を解析した。MKI67はKi-67蛋白質をコードする遺伝子であり、癌の生命予後を示唆する重要な指標である。Ki-67は活発に増殖をしている細胞の核に発現しているが、リドカイン投与後、Ki-67の局在が核から細胞質へ変化し、リドカイン濃度依存的なKi-67の減少と細胞内局在変化を明らかにした。また、リドカイン投与後、小胞体シャペロンであるGlucose-regulated protein(GRP) 78の発現が増強し、細胞質においてKi-67はGRP78と結合していることを示した。GRP78は細胞の恒常性維持に関与する小胞体ストレスにおいて重要な役割を果

たしており、リドカイン投与によりKi-67が低下するメカニズムとして、小胞体ストレスが関与している可能性を示した。さらに、リドカイン投与後G0/G1期のHeLa細胞が増加していたことから、本研究はリドカイン投与後Ki-67が低下し、休止期の細胞が増加することにより癌細胞株の増殖が抑制されるメカニズムを明らかにした。

以上より、主論文、副論文ともに局所麻酔薬リドカインによる抗腫瘍効果を分子レベルで解析した研究と認められ、博士 (医学) の学位に値するものと判定した。

令和4年12月5日

審査委員

主査 群馬大学教授 (医学系研究科)
薬理学分野担任 川辺 浩志

副査 群馬大学教授 (医学系研究科)
救急医学分野担任 大嶋 清宏

副査 群馬大学教授 (医学系研究科)
皮膚科学分野担任 茂木 精一郎

参考論文

【原著論文】

1. History of the development of antagonists for neuromuscular blocking agents.
(神経筋遮断薬の開発の歴史)
Journal of Anesthesia 34: 723-28, 2020.
Suzuki K, Takazawa T, Saito S.
2. Ajuba negatively regulates the Wnt signaling pathway by promoting GSK-3 β -mediated phosphorylation of β -catenin.
(Ajuba は GSK-3 β を介する β -catenin のリン酸化を促進することにより、Wnt シグナル伝達経路を負に制御する)
Oncogene 27: 274-84, 2008.
Haraguchi K, Ohsugi M, Abe Y, Semba K, Akiyama T, Yamamoto T.
3. Role of the kinesin-2 family protein, KIF3, during mitosis.
(細胞分裂期における kinesin-2 ファミリー蛋白 KIF3 の役割)
Journal of Biological Chemistry 281: 4094-9, 2006.
Haraguchi K, Hayashi T, Jimbo T, Yamamoto T, Akiyama T.
4. Activation of β -catenin-TCF-mediated transcription by non-receptor tyrosine kinase v-Src.
(非受容体型チロシンキナーゼ v-Src による β カテニン-TCF 複合体を介する転写活性化)
Biochemical and Biophysical Research Communications 313: 841-4, 2004.
5. **Haraguchi K**, Nishida A, Ishidate T, Akiyama T. The hDLG-associated protein DAP interacts with dynein light chain and neuronal nitric oxide synthase.
(hDLG 結合蛋白 DAP は dynein 軽鎖および神経型一酸化窒素合成酵素と結合する)
Genes to Cells 5: 905-11, 2000.
Haraguchi K, Satoh K, Yanai H, Hamada F, Kawabuchi M, Akiyama T.
6. LATS2-Ajuba complex regulates γ -tubulin recruitment to centrosomes and spindle organization during mitosis.
(LATS2-Ajuba 複合体は細胞分裂期に γ -tubulin を中心体へ誘導し、紡錘体の形成を制御する)
FEBS Letters 580: 782-8, 2006.

Abe Y, Ohsugi M, **Haraguchi K**, Fujimoto J, Yamamoto T.

7. DREG, a developmentally regulated G protein-coupled receptor containing two conserved proteolytic cleavage sites.
(DREG は発生段階で制御される G 蛋白共役受容体であり、2 つの保存された蛋白切断部位を有する)
Genes to Cells 9: 549-60, 2004.
Moriguchi T, **Haraguchi K**, Ueda N, Okada M, Furuya T, Akiyama T.
8. Identification of a link between the tumour suppressor APC and the kinesin superfamily.
(腫瘍抑制因子 APC と kinesin スーパーファミリーの関連性の同定)
Nature Cell Biology 4: 323-7, 2002.
Jimbo T, Kawasaki Y, Koyama R, Sato R, Takada S, **Haraguchi K**, Akiyama T.
9. Prions prevent neuronal cell-line death.
(プリオンは神経細胞株死を抑制する)
Nature 400: 225-6, 1999.
Kuwahara C, Takeuchi AM, Nishimura T, **Haraguchi K**, Kubosaki A, Matsumoto Y, Saeki K, Matsumoto Y, Yokoyama T, Itohara S, Onodera T.
10. Expression and localization of the LGN protein in the mouse brain with reference to its relationship with G α i2.
(G α i2 と関連したマウス脳における LGN 蛋白質の発現と局在)
Medical Electron Microscopy 32: 221-25, 1999.
Satoh K, Morishita T, **Haraguchi K**, Kakinuma N, Akiyama T, Senda T.
11. A novel adenovirus E1B19K-binding protein B5 inhibits apoptosis induced by Nip3 by forming heterodimer through the C-terminal hydrophobic region.
(新規アデノウイルス E1B19K 結合蛋白 B5 は C 末端疎水性領域を介したヘテロ 2 量体を形成することにより、Nip3 により誘導されるアポトーシスを抑制する)
Cell Death and Differentiation 6: 314-25, 1999.
Ohi N, Tokunaga A, Tsunoda H, Nakano K, **Haraguchi K**, Oda K, Motoyama N, Nakajima T.