

【目的】膵癌は腹部臓器に発生する固形悪性腫瘍のうち最も悪性度の高い癌腫であり、根治術不能あるいは根治術可能であっても局所および全身に再発する症例が極めて多い。本研究ではオートファジーの実態がライソゾームにおける基質分解にあることに着目し、膵臓癌におけるライソゾームの働き及びオートファジーの調整機構を解明することである。

【方法】ヒト膵癌細胞株に対し塩酸ゲムシタピン (GEM) を投与し、抗がん剤抵抗性とオートファジーの関係の評価およびターゲット酵素の選定を行ったのち、siRNA 法を用いて酸性 α グルコシダーゼ (GAA) の発現を抑制し、抗腫瘍効果、ミトコンドリア機能、オートファジー誘導効果の解析に加え、抗がん剤抵抗性におけるライソゾーム酵素の役割を明らかにした。また、shGAA を搭載したアデノウイルスベクター (AdV-shGAA) を作製し、マウス皮下腫瘍モデルに局注し抗腫瘍効果の検討を行った。

【結果】EM 投与により膵癌細胞のライソゾーム酵素遺伝子およびオートファジー関連遺伝子の発現増強を認め、ライソゾーム活性が上昇した。中でも GAA の発現は著明に亢進していた。GAA の酵素活性値は GEM 濃度依存的に上昇し、細胞内での要求が上昇した。また、GAA 遺伝子の抑制により GEM による抗腫瘍効果が増強することから、ライソゾーム機能が抗がん剤治療抵抗性の原因となっていることが明らかとなった。さらに GAA の発現抑制によりライソゾーム活性が低下し、オートファジー関連タンパクの発現が抑制された。細胞内では膜電位の低下した異常ミトコンドリアが蓄積し、アポトーシス誘導タンパクの発現増加を確認し、細胞増殖能の低下を認めた。In vivo においても AdV-shGAA よりマウス皮下腫瘍モデルにおいて抗腫瘍効果が確認された。ライソゾーム酵素発現抑制によりオートファジー機構が制御され、膵臓癌細胞がアポトーシスに誘導された。抗がん剤耐性にライソゾーム酵素が関与していることが示され、新たな治療標的となりうることが示唆された。

in vitro および *in vivo* における GAA 阻害によるオートファジー抑制と腫瘍増殖抑制

