

令和 6 年 6 月 2 日現在

機関番号：32666

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08935

研究課題名(和文) 麻酔薬による癌細胞生理への影響の検討

研究課題名(英文) The anesthetic effects on human cancer cell biology

研究代表者

岩崎 雅江 (Iwasaki, Masae)

日本医科大学・医学部・教授

研究者番号：20744428

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：いくつかのヒト培養癌細胞に様々な麻酔薬を投与し、癌細胞がどのように変化するかを分子学的に研究した。肺癌細胞に局所麻酔薬を投与すると、癌細胞の細胞増殖と遊走が抑制され、「臨床に應用すれば肺癌細胞の増殖や転移を抑えられる」可能性が示された。その機序にはアンギオテンシン転換酵素2(ACE2)とWNT1経路がかかわっており、ACE2をブロックすると局所麻酔薬による癌抑制効果は認められなかった。腎癌細胞においても同様の結果を得られた。小腸由来希少癌細胞2種類においても、各種薬剤は細胞代謝能を抑制した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、広く使用されている局所麻酔薬が培養癌細胞を直接抑制することを示し、かつ抗癌作用の作用機序をはじめ明確に示した。使用した薬剤濃度は臨床使用濃度よりも低く、2時間程度の使用で明らかな癌抑制効果を認めた。局所麻酔薬が直接癌細胞を抑制する効果を持つこと、麻酔薬の癌抑制効果の作用機序を1つ明らかにしたこと、いくつかの癌細胞において同様の結果を得られたこと、は学術的に意義のあることである。既存薬剤の癌治療における新たな可能性を示しており、大いに意義があると考えられる。また、臨床病理検体を染色することで、予後予測や適した治療方法・麻酔方法を選択できる可能性も秘めている。

研究成果の概要(英文)：The present study investigated the anesthetic effects on several human cancer cells. The lung cancer cells treated with some local anesthetics showed slower cell growth and suppressed migration, indicating that local anaesthetics might suppress cancer growth and metastasis in clinical situations. Our results showed that angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) and WNT1 signaling pathway were related to these cell viability changes. The knockdown of ACE2 resulted the cancellation of the anti-cancer effects of local anaesthetics. The similar results were obtained with human renal cancer cells with local anesthetics. Furthermore, other two cancer cells of intestine originated cancers showed decreased cell metabolism after each anesthetic administration.

研究分野：cancer biology, anesthesia

キーワード：癌細胞生理 麻酔薬 ACE2 HIF1 WNT1経路

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

癌は世界において死因の第1位であり、全身麻酔下での外科的切除が治療の第一選択である。癌の術後再発は、全ての癌において1年後生存率を大きく左右する。術後再発の要因の一つとして「手術中の麻酔薬の影響」が知られており、癌再発予測マーカーとしてのACE2(癌生存予測マーカー)・HIF1(癌悪性度マーカー)が注目されてきたが、この2因子間の相互作用、麻酔薬投与後のACE2発現変化は解明されていない。

癌手術中の麻酔薬は、術後残存した癌細胞の遺伝子(miRNA、mRNA)発現変化を介して、癌細胞の機能変化を起こし、術後再発に繋がると考えられる。癌手術麻酔を担当する麻酔科医は、麻酔薬・麻酔方法を選択する際、「術後癌再発を最小限に抑える薬剤」を考慮する必要がある。

本研究では、「麻酔薬投与後のACE2系の変化が肺癌細胞生理の変化を誘発する」と仮定し、麻酔薬投与による腫瘍予後への影響を解明することを試みた。本研究において、ACE2およびHIF1制御系が解明されれば、新たな癌治療法に繋がらう。肺癌手術における麻酔薬や麻酔方法の選択においても、微小環境での変化を考慮した最善策を提供できるものとする。

2. 研究の目的

『本研究の目的』は、「培養肺癌細胞において、麻酔薬投与後のACE2・HIF1発現変化を明らかにする」こととした。さらにmiRNAやsiRNAを併用し、「培養ヒト肺癌細胞におけるACE2・HIF1の役割や相互作用を明らかにする」、「麻酔薬投与下でのACE2発現制御系を明らかにする」ことを目標とした。特に、HIF1については「麻酔薬による発現変化に着目し、肺癌手術に最適な麻酔薬選択の根拠を提示する」ことを目的とした。

3. 研究の方法

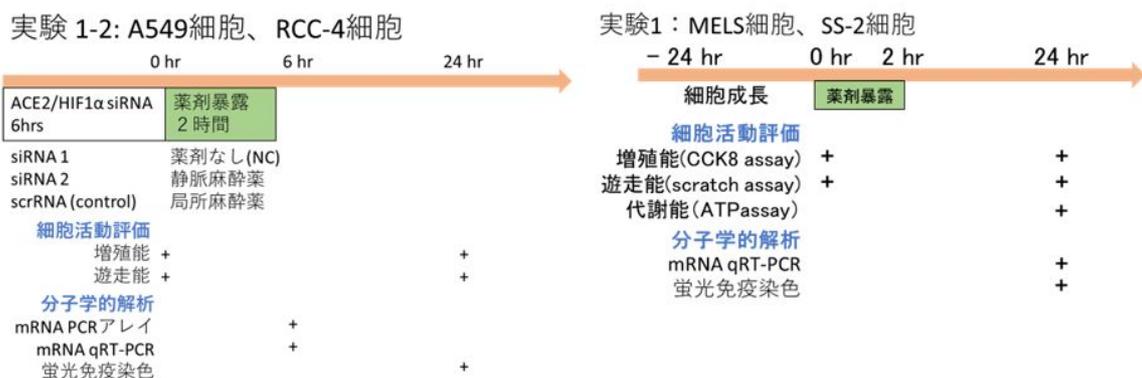
本研究では、ヒト培養癌細胞4種において、麻酔薬投与と共にsiRNA投与によるACE2遺伝子発現操作を行い、麻酔薬による癌細胞生理の直接的変化、ACE2・HIF1発現制御系を解明した。

実験1: ヒト培養癌細胞に対し2時間の麻酔薬投与を行い、6時間後に癌転移関連mRNAの解析を行った。薬剤は、臨床使用濃度の静脈麻酔薬(プロポフォール、ミダゾラム)、局所麻酔薬(ロピバカイン、レボプロピバカイン)のいずれかを用いた。コントロール群は薬剤を加えなかった。

実験2: ヒト培養癌細胞に対し、ACE2 siRNA導入によるmRNA発現操作を6時間行った後、2時間の麻酔薬投与を行い、6時間後に癌転移関連mRNAを解析した。使用する薬剤は、実験1での細胞活動評価で有意差を認めた麻酔薬を使用した。

全ての実験において、細胞活動評価は、増殖能(CCK-8キット)、遊走能評価(wound healing アッセイ)を行い、分子学的評価は、麻酔24時間後に蛍光免疫染色を行った(図1)。

図1: 本研究での実験フローチャート



4. 研究成果

本研究では、「臨床用量の各種麻酔薬が培養ヒト癌細胞生理にどのように影響するか」を検討した。培養ヒト癌細胞は4種類、麻酔薬は静脈麻酔薬2種類(プロポフォール、ミダゾラム)、局所麻酔薬2種類(ロピバカイン、レボプロピバカイン)を用いた。

ヒト肺癌 A549 細胞では、ロピバカイン投与が濃度依存性に細胞増殖と遊走を抑制し(図 2)、ACE2 発現を増強、HIF1 発現を減弱した。siRNA 導入による ACE2 mRNA ノックダウンでロピバカイン付加の効果はキャンセルされた。PCR アレイは、ロピバカイン投与群、ACE2 ノックダウン群が特異的な遺伝子変化パターンを示した。プロポフォール、ミダゾラム投与も濃度依存性に細胞増殖と遊走能を抑制し、ACE2 発現を増強、HIF1 発現を減弱した(図 3)。レボプロピバカイン投与では WNT1 遺伝子が濃度依存性に抑制され、その効果は ACE2 ノックダウン群ではキャンセルされた。

図 2 : A549 細胞ロピバカイン・ACE2 siRNA 投与時の細胞増殖能・遊走能変化

左 : 細胞増殖能、右 : 細胞遊走能

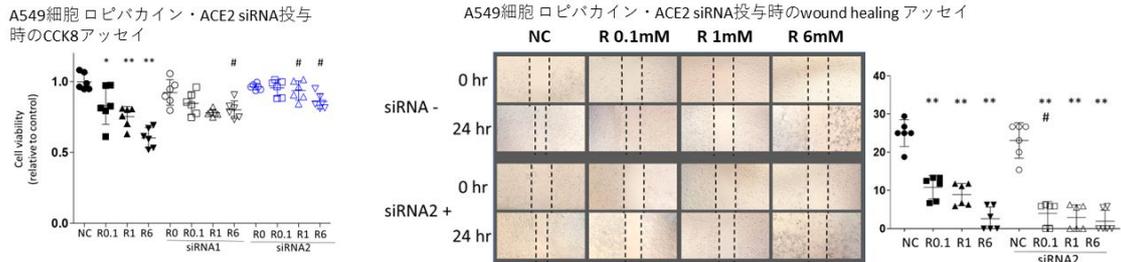
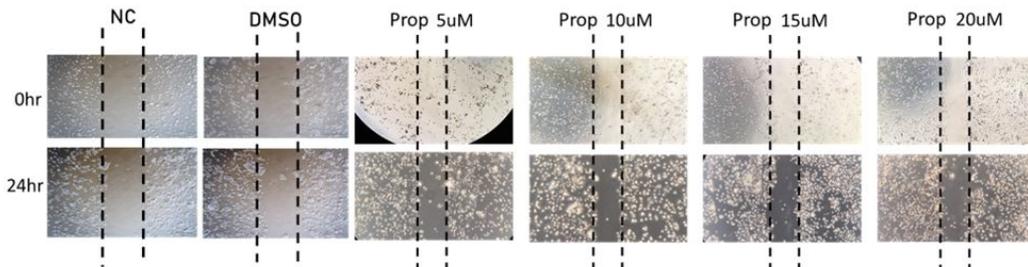
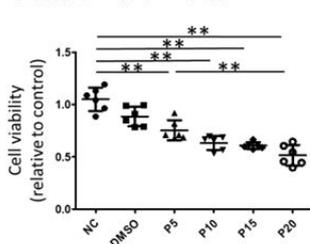


図 3 : A549 細胞プロポフォール投与時の細胞遊走能・増殖能・癌関連タンパク質発現変化

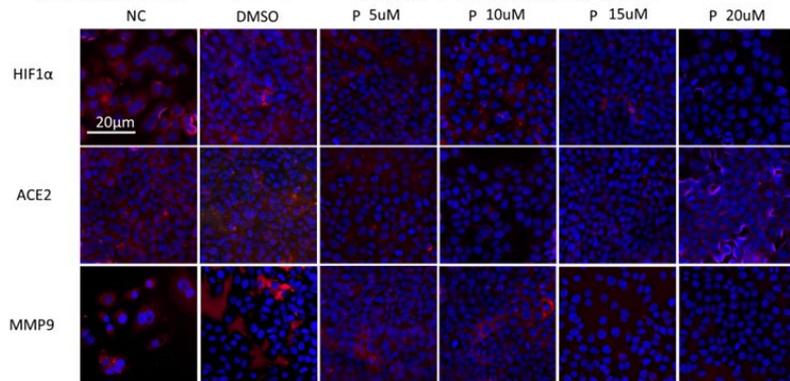
A549細胞：プロポフォール暴露後の遊走能変化



A549細胞：プロポフォール暴露後の増殖能変化

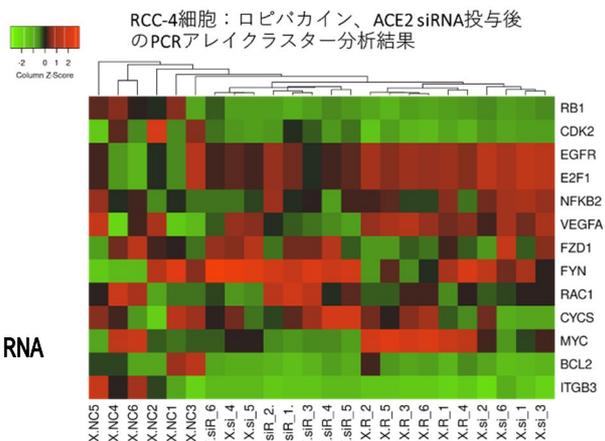


A549細胞にプロポフォール暴露後の蛍光免疫染色結果



ヒト腎明細胞癌細胞(RCC-4 細胞)では、ロピバカイン投与が濃度依存性に細胞増殖と遊走を抑制し、ACE2 発現を増強、HIF1 発現を抑制した。PCR アレイは、ロピバカイン投与群、ACE2 ノックダウン群で特異的な遺伝子変化パターンを示した(図 4)。レボプロピバカイン投与群も濃度依存性に細胞増殖と遊走を抑制したが、効果はロピバカイン投与群の方が強かった。

図 4 : RCC-4 細胞ロピバカイン・ACE2 siRNA 投与時の癌関連遺伝子 PCR アレイ結果



腸管由来希少癌の2種(MELS細胞、ss-2細胞)では、ロピバカイン、レボピバカイン投与は細胞増殖を抑制したが、代謝は変化しなかった。プロポフォル、ミダゾラム投与は濃度依存性に細胞増殖と代謝を抑制した(図5、6)。

図5:SS-2細胞各種薬剤投与時の細胞増殖能変化

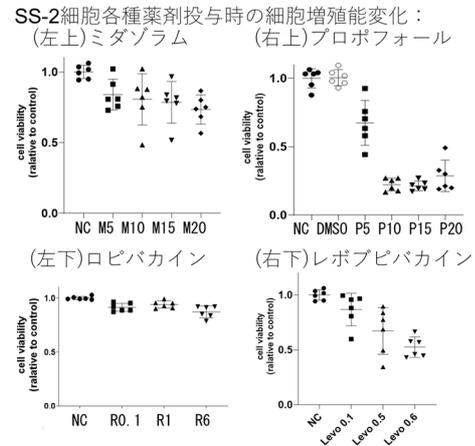
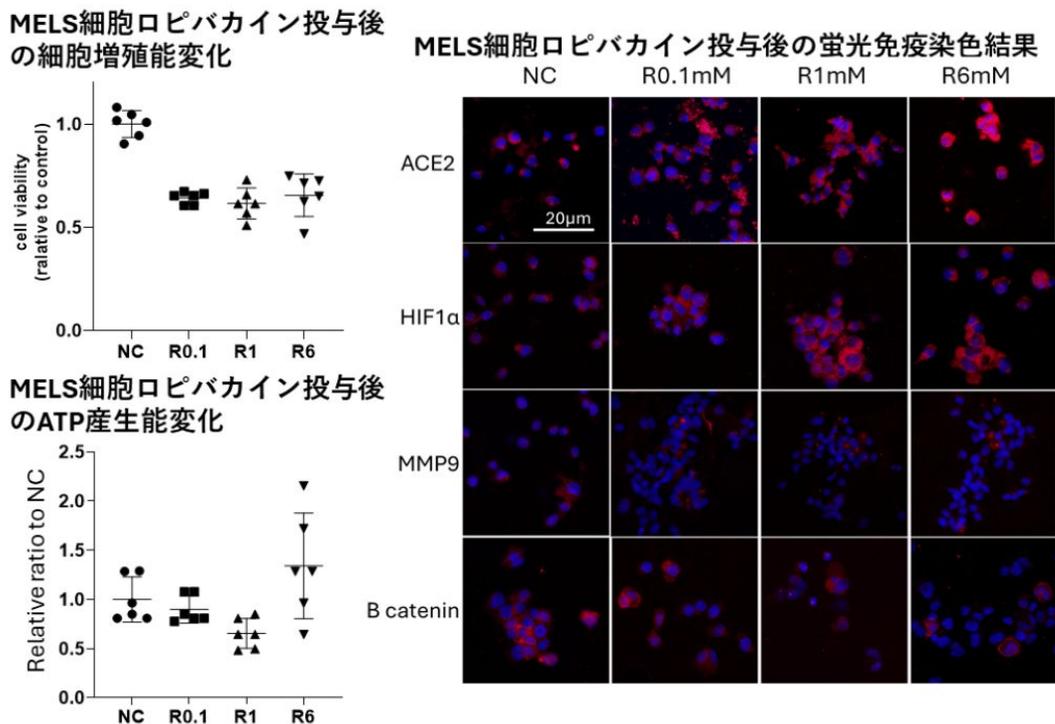


図6: MELS細胞ロピバカイン投与時の細胞増殖能・ATP産生能の変化、癌関連タンパク質発現変化



上記から、

臨床使用濃度・暴露時間の麻酔薬は、癌細胞生理に直接的作用する

麻酔薬の直接作用は癌腫によって作用方面が異なる

局所麻酔薬は、ACE2発現を増強し、WNT1経路とHIF-1を抑制し癌抑制効果を示す

腸管由来希少癌細胞では、静脈麻酔薬と局所麻酔薬は代謝能も抑制する

という大きな新規知見を得られた。

特に、ACE2 siRNA導入を用いて、ACE2の抗腫瘍効果およびWNT1経路・HIF-1との相互作用を初めて明らかにしたことは、臨床病理検体での予後予測や、新規の抗腫瘍治療への可能性に繋がり、臨床的な意義が大きいと考える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 岩崎 雅江
2. 発表標題 ロピバカイン投与は培養ヒト肺癌細胞の増殖を抑制する
3. 学会等名 日本麻酔科学会第69回学術集会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	坂本 篤裕 (Sakamoto Atsuhiko) (30196084)	日本医科大学・大学院医学研究科・大学院教授 (32666)	
研究分担者	石川 真士 (Ishikawa Masashi) (30714745)	日本医科大学・医学部・教授 (32666)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------