

# 論文内容の要旨

Midazolam and dexmedetomidine each promoted the migration of human lung adenocarcinoma A549 cells

ミダゾラムとデクスメデトミジンはそれぞれヒト肺腺癌 A549 細胞の遊走を促進した

日本医科大学大学院医学研究科 疼痛制御麻酔科学分野

大学院生 石川 杏奈

# 論文内容の要旨

## 【背景】

本邦において癌は死因の第一位を占めており、年間約 40 万人が死亡している。癌患者の予後に関して、周術期に使用される静脈麻酔薬が癌細胞の遊走能や転移に影響を及ぼす可能性が近年報告されている。しかしながら、ヒト肺腺癌細胞に対するミダゾラムおよびデクスメデトミジンの作用を直接比較検討した報告は限られている。そこで本研究では、ヒト肺腺癌細胞株 (A549) を用いて、これら 2 剤が癌細胞の挙動に与える影響を比較検討した。

## 【方法】

ヒト肺腺癌細胞株 A549 を、10%ウシ胎児血清を含む RPMI-1640 培地にて培養した。実験群として、薬剤を含まない「コントロール (C) 群」、臨床血中濃度を考慮した「ミダゾラム (M) 群」(濃度: 5, 10, 15, 20  $\mu$ M)、および「デクスメデトミジン (D) 群」(濃度: 1, 10, 100 nM) を設定した。各薬剤に 2 時間曝露した後、以下の解析を行った。細胞増殖能および細胞毒性は、アデノシン三リン酸 (ATP) 分析および Cell Counting Kit-8 (CCK) アッセイを用いて評価し、創傷治癒アッセイ (Wound Healing Assay: WHA) を用い、薬剤処理後のスクラッチ面の閉鎖率を測定した。また、転移関連遺伝子 (HIF-1 $\alpha$ 、ACE2、MMP9、 $\beta$ -catenin、Cadherin 等) の mRNA 発現量を、PCR アレイおよび定量的リアルタイム PCR (qRT-PCR) 法にて解析した。統計解析は一元配置分散分析を用い、 $P < 0.05$  を有意とした。

## 【結果】

創傷治癒アッセイ (WHA) において、ミダゾラムおよびデクスメデトミジンはいずれも濃度依存的に A549 細胞の創傷閉鎖を促進した。C 群と比較して、M 群および D 群の全ての濃度域において遊走能の有意な亢進が認められた (M 群:  $p < 0.001$ 、D 群:  $p < 0.001$ )。一方、細胞増殖能および細胞生存率に関しては、両薬剤とも有意な影響を与えなかった。ATP 分析において、細胞内 ATP 量は C 群と比較して、M 群の全濃度域で細胞代謝を有意

# 論文内容の要旨

に減少させた( $p < 0.05$ )。CCK アッセイでは C 群に対し低濃度 M 群では細胞増殖を有意に抑制したが(M5  $p = 0.001$ , M10  $p < 0.001$ )、高濃度域では有意差はなかった。一方、D 群では ATP 分析と CCK アッセイで共に有意差を認めなかった (ATP 分析  $p = 0.717$ , CCK アッセイ  $p = 0.999$ )。これより、観察された創傷閉鎖の促進は、細胞分裂による数的な増加ではなく、細胞移動能力そのものの活性化によるものであることが確認された。

遺伝子発現解析においては、詳細な発現変動が確認された。癌浸潤マーカーである MMP9 の mRNA 相対発現量は、C 群に対し、低濃度 M 群では有意差を認めなかったものの、高濃度域では著明かつ有意に低下した (M15, M20  $p < 0.001$ )。同様に  $\beta$ -catenin の発現量も、C 群と比較して M 群の全濃度域で有意に低下した ( $p < 0.001$ )。D 群においても MMP9 と  $\beta$  カテニンの発現の有意な低下を認めた ( $p < 0.001$ )。その一方で、抗腫瘍マーカーであるアンジオテンシン変換酵素 2 (ACE2) の mRNA 発現量は、C 群と比較して高濃度の M 群において有意な上昇を示した (M20  $p < 0.001$ )。同様に、C 群と比較して高濃度の D 群においても ACE2 の発現は有意に上昇した (D10  $p = 0.001$ , D100  $p < 0.001$ )。

## 【考察・結語】

本研究では、ミダゾラムとデクスメデトミジンが、A549 細胞の増殖能には影響を与えず、遊走能を有意に促進することを示した。特筆すべきは、浸潤関連因子 MMP9 や  $\beta$ -catenin の発現低下にもかかわらず遊走が亢進した点であり、これには ACE2 の発現上昇など別のシグナル伝達経路が関与している可能性が示唆された。また、今回の研究でミダゾラムは細胞の代謝を抑制することが示されており、肺癌手術においてはデクスメデトミジンよりも有利である可能性が示唆された。in vitro の結果ではあるが、周術期に頻用されるこれら薬剤が癌転移のリスク因子となり得る可能性を示しており、肺癌患者における鎮静薬の選択には慎重な検討が必要であると考えられる。