

[課程—2]

審査の結果の要旨

氏名 土屋 武弘

上皮成長因子受容体チロシンキナーゼ阻害剤 (EGFR 阻害剤 :ゲフィチニブ) は、EGFR 遺伝子変異を持つ症例で著明な抗腫瘍効果を発揮する。しかしながら、耐性獲得による再発が臨床上大きな課題である。耐性獲得の原因の一つは、*MET* 遺伝子の増幅であり、*X* は、*MET* に対して抑制的に作用すると考えられる分子である。

本研究では、*MET* 増幅により耐性を獲得した肺腺がん細胞が、*X* 遺伝子の導入によってゲフィチニブへの感受性を回復することを培養細胞・動物個体レベルで検討した。特に、外来性に *X* を導入することで、ゲフィチニブ感受性の改善を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. ゲフィチニブに感受性を有する A 細胞株、*MET* 増幅により耐性を獲得した B 細胞株と GR5 細胞株に *X* の発現ベクターを導入した B+X 細胞を用いて異種異所性移植担がんモデルマウスを作成した。ゲフィチニブ投与群と非投与群に無作為に割り当てて検討した。ゲフィチニブ非投与群では B 腫瘍は、A 腫瘍と比較して有意に腫瘍体積が大きかった。それと比較して、*X* を導入した B+X 腫瘍は、B 腫瘍より有意に小さく、A 細胞による腫瘍とほぼ同様の大きさであった。次に、B+X 腫瘍のゲフィチニブ投与群は、非投与群と比較して、腫瘍体積が有意に小さい状態で安定して維持されていた。以上の解析から、*MET* 増幅によるゲフィチニブ耐性獲得細胞の増殖は、*X* の導入だけで部分的に抑制されること、更にゲフィチニブ感受性が改善し、相乗的な腫瘍抑制効果が得られることが明らかとなった。
2. 次に、B+X 腫瘍がゲフィチニブ投与群において、小さい体積で安定して維持される理由を検討した。異種異所性移植マウスをゲフィチニブ投与・非投与後に安楽死させて、抗 Ki-67 抗体にて腫瘍の免疫染色を行なった。ゲフィチニブ非投与群で B 腫瘍と比較して、B+X 腫瘍では Ki-67 の発現が有意に減少していた。また、B+X 腫瘍ではゲフィチニブ投与群で Ki-67 の発現が有意に減少していた。以上から、*X* を導入することで、腫瘍の増殖が抑制されること、更にゲフィチニブを投与することで相乗的な増殖抑制効果を得ることが明らかとなった。
3. 次に、テトラサイクリン依存的に *X* を発現する B 細胞、B-Tet-ON-X 細胞株を作成した。異種異所性移植モデルを樹立して、ドキシサイクリン投与・非投与群に分けて、更に同日から各々をゲフィチニブ投与群と非投与群に無作為に割り当てて計 4 群の観察を行なった。*X* 発現誘導腫瘍においてゲフィチニブ投与群では非投与群と比較し

て腫瘍体積が有意に小さい状態で維持されていた。以上から、X の発現を誘導することで、ゲフィチニブに対する感受性を改善し、腫瘍体積が小さい状態で維持されることを明らかにした。

4. 以上の結果より、ゲフィチニブ耐性腫瘍に X を導入することが、有用な抗腫瘍戦略になり得るのではないかと考えた。そこで実験的な治療方法として、ゲフィチニブ耐性腫瘍に外来性に X を導入してゲフィチニブ投与を行うこととした。まず細胞レベルで検討した。X を外来性に導入する群とコントロールベクターを外来性に導入する 2 群で比較検討した。X 導入細胞は、コントロールベクター導入細胞と比較して有意な細胞生存率の抑制を認めた。次に、X 導入細胞群では、ゲフィチニブ投与群において非投与群と比較して有意な増殖抑制を認めた。以上の結果から、X を外来性に導入して X の一過性発現を誘導することで、X による抗腫瘍効果を獲得し、更にゲフィチニブ感受性改善により相乗的な増殖抑制効果を得ることが確認された。
5. 実験的治療モデルとして、ゲフィチニブ耐性肺腺がん細胞異種異所性移植マウスに X、コントロールベクターを外来性に導入して、更に同日から各々をゲフィチニブ投与群と非投与群に無作為に割り当てて検討を行なった。X を外来性に導入した群に、ゲフィチニブ投与を併用した群において有意に腫瘍体積が小さかった。以上から、ゲフィチニブ耐性肺がん腫瘍において、X を外来性に導入して、ゲフィチニブを投与することによりゲフィチニブに対する感受性が改善されて、腫瘍増殖を抑制することが確認された。

以上、本論文は X が、MET 増幅に起因するゲフィチニブ耐性に対して、動物個体レベルでゲフィチニブ感受性を改善することを明らかにした。更に、実験的な遺伝子治療モデルとして、X をゲフィチニブ耐性腫瘍内に導入することでゲフィチニブ感受性を改善することを示した。本研究は、難航するゲフィチニブ耐性肺腺がんの抗腫瘍戦略において、新規治療開発の一助となるものと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。