

京都大学	博士 (医学)	氏 名	長 博 之
論文題目	<p>Trametinib plus 4-methylumbelliferone exhibits antitumor effects by ERK blockade and CD44 downregulation and affects PD1 and PD-L1 in malignant pleural mesothelioma (悪性胸膜中皮腫においてトラメチニブと4-メチルウンベリフェロンは、ERKを遮断しCD44を下方制御することによって抗腫瘍効果を示し、PD1及びPD-L1の発現に影響を与える)</p>		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>悪性胸膜中皮腫は非常に浸潤性の高い悪性腫瘍であり、診断後の生存期間中央値は9～12か月と極めて予後不良である。現在のところ手術・化学療法・放射線治療を組み合わせた集学的治療が行われているが比較的治療抵抗性である。それゆえこの腫瘍に対する新しい有効な治療法の開発が求められる。</p> <p>分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ Mitogen-activated protein kinase (MAPK) シグナル伝達経路は細胞の増殖、分化、生存の調節に重要な役割をもち、悪性胸膜中皮腫において恒常的に活性化している。MEK阻害剤トラメチニブはV600E BRAF変異陽性転移性悪性黒色腫の患者において有効性が証明され、FDAの承認を取得した初めてのMEK阻害剤である。</p> <p>ヒアルロン酸 hyaluronic acid (HA)は細胞外マトリックスを構成する主要成分で、CD44などの受容体と結合して細胞の増殖、浸潤、癌細胞の転移を促進する。悪性胸膜中皮腫はHAに富む腫瘍であり、HAの増加は悪性度及び予後不良に関与している。HA合成阻害剤4-メチルウンベリフェロン(4-MU)は本邦において利胆剤として臨床で使用されていたが、HAの合成を抑制し、さまざまな悪性腫瘍において抗腫瘍効果を示すことが近年報告されている。</p> <p>本論文の研究では、悪性胸膜中皮腫細胞において、トラメチニブと4-MU、そしてこれら2剤による併用治療が抗腫瘍効果を示すかどうかを <i>in vitro</i> 試験及び <i>in vivo</i> 試験にて検証した。またこれらの薬剤が免疫チェックポイント分子であるPD1及びPD-L1の発現にどのような影響を与えるか検証した。方法は、<i>in vitro</i> 試験では細胞生存性試験、フローサイトメトリー、ウェスタンブロッティング、RNA干渉を、<i>in vivo</i> 試験ではマウス中皮腫皮下腫瘍モデルを用いた。</p> <p><i>in vitro</i> 試験では、細胞生存性試験でトラメチニブ及び4-MUは、悪性胸膜中皮腫細胞株に対し濃度依存性に細胞増殖活性を抑制した。フローサイトメトリーでこれら2剤がそれぞれ、悪性胸膜中皮腫細胞株に対し濃度依存性にアポトーシスを誘導した。ウェスタンブロッティングではトラメチニブはERKのリン酸化及びCD44の発現を濃度依存性に抑制した。siRNAによるERKのノックダウンによってもCD44の発現が抑制された。またトラメチニブはERKのリン酸化抑制及びCD44の発現抑制に一致して、転写因子AP-1の構成体であるFra-1の発現を抑制した。4-MUはCD44の発現は抑制しなかったが、ERKのリン酸化を抑制した。</p> <p><i>in vivo</i> 試験では、マウス中皮腫皮下腫瘍モデルにおいて、トラメチニブ及び4-MUは腫瘍の成長を抑制した。これら2剤による併用治療はより強力に腫瘍の成長を抑制した。摘出した腫瘍を用いたウェスタンブロッティング及び免疫組織化学染色法では、トラメチニブ、4-MU、2剤併用治療はERKのリン酸化を抑制した。またトラメチニブはPD-L1の発現を抑制し、4-MUはPD1及びPD-L1の発現を増強した。2剤併用治療は4-MU治療のみよりもさらに強くPD1及びPD-L1の発現を増強した。</p> <p>以上より、トラメチニブ及び4-MUは悪性胸膜中皮腫細胞株に対し抗腫瘍効果を示し</p>			

た。さらに2剤併用治療では単剤治療それぞれよりもより強力な抗腫瘍効果を示した。トラメチニブ及び4-MUはすでに臨床使用されている薬剤であるが、悪性胸膜中皮腫において将来有望な治療薬であり臨床への応用が期待される。

(論文審査の結果の要旨)

悪性胸膜中皮腫(MPM)は手術・化学療法・放射線治療を用いた集学的治療が行われているが治療抵抗性であり、極めて予後不良な疾患である。そのため、MPMの治療成績向上のためには有効な新規の治療方法の開発が必要である。

本研究では、MPMにおいてMAPK pathwayが腫瘍形成に重要な役割を持つこと、MPMがヒアルロン酸(HA)に富む腫瘍であることに着目し、他疾患で既に臨床応用されているMEK阻害剤トラメチニブとHA合成阻害剤4-メチルウンベリフェロン(4-MU)のMPMに対する抗腫瘍効果を検証した。

トラメチニブ及び4-MUは、アポトーシスを誘導することによってMPM細胞株の増殖活性を抑制し、マウス中皮腫皮下腫瘍モデルでは腫瘍の成長を抑制し、これら2剤の併用ではさらに強力に抑制することを示した。トラメチニブはERKのリン酸化及びCD44の発現を抑制し、これらに一致して転写因子AP-1の構成体であるFra-1の発現を抑制したが、CD44の発現はERKのノックダウンによって抑制され、MPMにおけるCD44の発現はリン酸化ERKに依存したFra-1の発現に関与することが示された。PD1及びPD-L1の発現は、トラメチニブは抑制し、4-MUは逆に増強し、2剤併用は4-MUよりもさらに強く増強したが、これら2剤はともにMPMの免疫機能に影響を及ぼすことが示された。

以上の研究は、他疾患で既に臨床応用されているMEK阻害剤トラメチニブ及びHA合成阻害剤4-MUがMPMに対して抗腫瘍効果を示すことを明らかにし、MPMの新規治療方法の開発に寄与するところが大きい。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成29年2月24日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降