

## 学位論文の内容の要旨

専攻	医学	部 門 (平成27年度以前入学者のみ記入)	
学籍番号	18D721	氏 名	濱谷 紗江
論文題目	Characterization of cisplatin effects in lenvatinib-resistant hepatocellular carcinoma cells		

**(論文要旨)**

**【背景と目的】** レンバチニブは進行した肝細胞癌(HCC)に高い抗腫瘍効果が期待されている分子標的治療薬だが、その薬剤耐性と耐性獲得後の治療選択は重要な問題である。一方、シスプラチンは長年広い癌腫で使用され、進行HCCには肝動脈化学塞栓療法(TACE)や肝動注化学療法(HAIC)で用いられる。レンバチニブ耐性(LR) HCCに対するシスプラチンの有効性とその作用機序については未だ報告がない。本研究の目的は、レンバチニブ耐性の基礎的なメカニズムを解明し、LR HCCの治療に貢献しうる薬剤を探索することである。

**【方法】** 1) レンバチニブ耐性のない野生型(WT)のHuh7, Hep3B, Li-7をレンバチニブ存在下で長期培養してLR株を樹立した。IC50値で耐性を確認し、Western blot法、リン酸化ヒト受容体チロシンキナーゼ(pRTK) array、micro RNA(miRNA)解析でその特性について検討した。2) LR株に対するシスプラチンの増殖抑制効果とその作用機序についてMTT assay、in vivo、flow cytometry、Western blot法、Angiogenesis array、miRNA解析で検討した。

**【結果】** 1) LR株はWT株より高いIC50値を示し(Fig. 1A)、また増殖能が高いことを確認した。LR株ではp-ERK1/2の発現が高く、ERKシグナルの活性化が示唆された(Fig. 1B)。pRTKとmiRNAの解析ではpRTKの発現に変化はなかったが、20の有意に異なる発現示すmiRNAを同定した。2) LR株において、シスプラチンはin vitroとin vivoで腫瘍増殖抑制効果を示した。また、細胞周期ではG2/M停止を誘導し(Fig. 2)、Cyclin B1とp-cdc2(Tyr15)、およびその上流シグナルのp-ATM、p-ATR、p-Chk1、p-Chk2の発現も増強した(Fig. 3)。さらにATM/ATR阻害剤であるカフェインの投与によりp-ATR、Cyclin B1、p-cdc2の発現は減弱し、G2/M停止を阻害した。以上よりシスプラチンによるG2/M停止は、ATM/ATRシグナル伝達経路の活性化によって誘発されることが示された。Angiogenesis arrayではシスプラチンによりangiogeninがWT株・LR株ともに減弱したが、coagulation factor IIIとIL-8はLR株でのみ抑制された(Fig. 4)。シスプラチンによるmiRNAの発現変化をWT株とLR株のそれぞれについて解析し(Fig. 5A-B)、さらにWT株・LR株を含めた全Huh7細胞についても解析した。結果、WT株・LR株に共通してmiR-15b-5p, miR-16-5p, miR-191-5pの発現変化を認めた。

**【結語】** LR HCC細胞を樹立し、LR株では高い増殖能とERKシグナルの亢進が特徴であることを示した。また、シスプラチンはLR株においても抗腫瘍効果を示し、その作用機序にはATM/ATRシグナル伝達経路を介したG2/M停止、血管新生因子およびmiRNAの変化が関与していると考えられた。本研究はレンバチニブ耐性メカニズムの解明とLR HCCの治療法の確立に寄与することが期待される。レンバチニブ不応となった進行HCC患者に対してシスプラチンを使用したTACEやHAICが有効性である可能性があり、分子標的薬との集学的治療が重要であると考えられた。

Fig.1

A

Cells line	WT	LR
	IC50 (μM)	IC50 (μM)
Huh7	0.56	12.84
Hep3B	2.65	11.66
Li-7	4.65	11.75

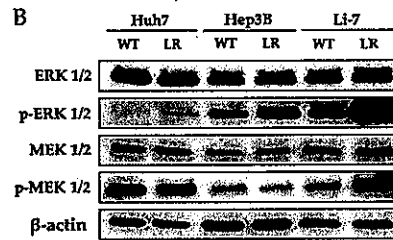


Fig.2

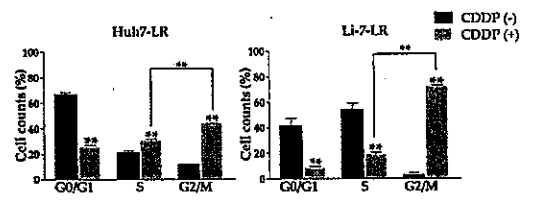


Fig.3

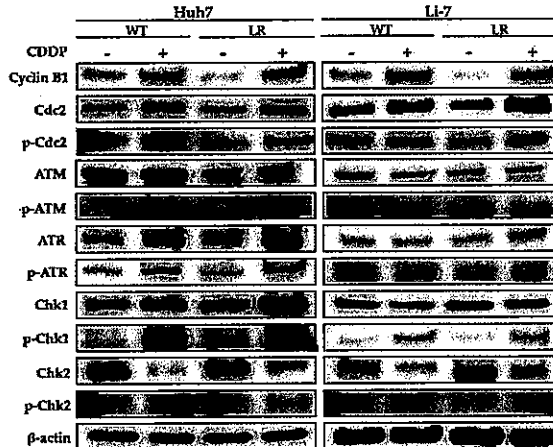


Fig.4

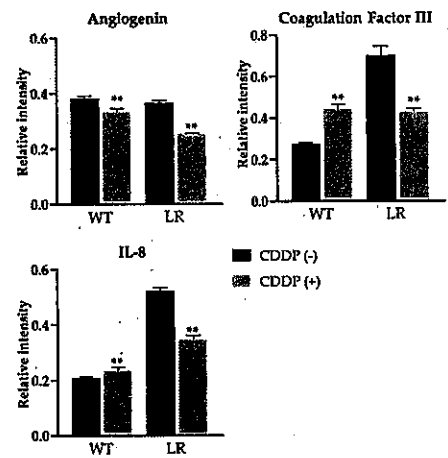
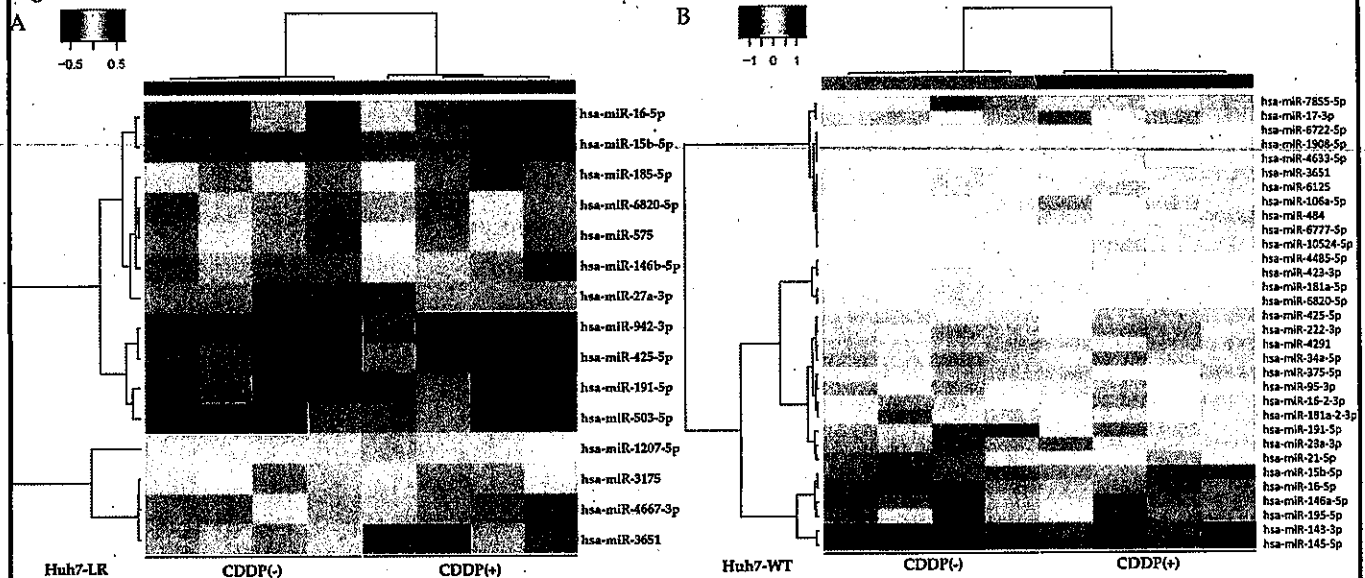


Fig.5



掲載誌名 Anticancer Research

第 42 卷, 第 3 号

(公表予定)

掲載年月

2022 年 3 月

出版社(等)名

International Institute of Anticancer Research

Peer Review

有

無

(備考) 論文要旨は、日本語で1, 500字以内にまとめてください。