

医博甲第 811 号

Characterization of cisplatin effects in lenvatinib-resistant hepatocellular carcinoma cells

濱谷紗江、藤原新太郎、岩間久和、藤田浩二、石婷婷、中林良太、水尾孝章、琢磨慧、中原麻衣、大浦杏子、田所智子、三村志麻、谷丈二、森下朝洋、小原英幹、小野正文、樋本尚志、正木勉

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。本研究では以下の方法により、レンバチニブ耐性の基礎的なメカニズムと LR HCC の治療に貢献しうる薬剤について検討した。

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、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腫瘍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。

結果は 1)LR 株は WT 株より高い IC50 値を示し、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。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、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。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。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、さらに WT 株・LR 株を含めた全 Huh7 細胞についても解析したところ、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。

本研究では 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。これらはレンバチニブ耐性メカニズムの解明と LRHCC 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。