

## 論文審査の結果の要旨

### miR-379/411 cluster regulates IL-18 and contributes to drug resistance in malignant pleural mesothelioma

悪性胸膜中皮腫における miR-379/411 cluster による IL-18 の制御と薬剤耐性関与の検討

日本医科大学大学院医学研究科 呼吸器内科学分野

研究生 山本 和男

ONCOLOGY REPORTS 掲載予定

悪性胸膜中皮腫 (MPM) は漿膜細胞から発生する予後不良の悪性腫瘍である。アスベスト暴露の背景から、今後我が国では発生が増加することが予想されている。外科的切除が可能な MPM 患者は少数例であり、その予後も切除後 5 年生存率 15%未満と不良である。したがって、多くの MPM 患者は化学療法で治療されており、シスプラチン (CDDP) +ペメトレキセド (PEM) が奏効率: 41%、生存期間中央値: 12 か月と、現在の化学療法の第一選択となっている。近年、ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) 阻害剤ボリノスタット (SAHA) は MPM における CDDP のアポトーシスを増強することが認められた。CDDP +SAHA は、MPM の新たな治療戦略となる可能性がある。しかし、これらの治療効果は十分ではなく、効率的な治療法の開発が望まれている。

この研究では、MPM において、特定の遺伝子とマイクロ RNA (miRNA) が薬剤反応性のバイオマーカーとして有効であるか、明らかにすることを、研究の目的とした。申請者等は、MPM 細胞の新たな治療標的を特定するために、MPM の 6 種類の細胞株 (211H、H28、H2052、H2452、MESO1、MESO4) について、薬剤感受性試験と遺伝子および miRNA 発現プロファイリングをおこなった。PEM および SAHA に対する相対的感受性にに基づき、211H 株を感受性 MPM 細胞株、H28 および H2052 株を中間感受性株、H2452、MESO1 および MESO4 株を耐性株とした。これらの細胞株について、DNA マイクロアレイにより、全ゲノム転写プロファイリングを行い、得られた因子の経路分析を実施した。その結果、特に注目すべき点は、IL-18 遺伝子発現レベルが、感受性 211H 株と比較して薬剤耐性あるいは中間感受性細胞株で有意に高かったことであった。また、経路分析から、IL-18 が MPM 細胞の薬剤耐性に関連する重要な遺伝子であることが明らかになった。qRT-PCR を用いた 10 種類のサイトカイン遺伝子 (IL-1A、IL-2、IL-4、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12A、IL-18、IL-24、IL-27) の評価では IL-18 の発現と薬剤耐性の関連性も確認された。次に、薬剤耐性株における IL-18 の誘導機構を検討するために、MPM 細胞株パネルで miRNA の発現プロファイルを行なった。その結果、miR-379 および miR-411 が、IL-18 遺伝子を共通して標的とし、また、染色体 14q32 上に位置する同じ miRNA cluster に属していることが明らかになった。ルシフェラーゼレポーターアッセイから、miR-379 および miR-411 が IL-18 遺伝子を直接標的とすることが明らかになった。miR-379 および miR-411 を導入し、IL-18 のサイレンシングを行うことにより耐性 MESO1 株の浸潤能が有意に抑制された。また、miR-379 および miR-411 に PEM または SAHA を併用することにより、耐性 MESO1 株の薬剤への感受性上昇が再現された。以上から、MPM において、miR-379/411 cluster は IL-18 の制御と薬剤耐性に関与することが明らかになり、新たな治療標的となる可能性が示唆された。

第二次審査では、薬剤による感受性改善の差異、細胞内と培養液中のサイトカイン量の差、SAHA と IL-18 の関係、今後の臨床応用の展望などについて質疑があり十分な知識をもとに的確な回答を得た。

本研究の結果は、MPM における薬剤感受性に miR-379/411 cluster や IL-18 が関与することを提唱するものであり、この疾患の治療の効率化をもたらす可能性を示唆した価値ある論文と考えられる。以上より、本論文は学位 (医学博士) 論文として十分に価値あるものと認定した。