

## 第二次審査（論文公開審査）結果の要旨

### Synergistic effect of targeting dishevelled-3 and the epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor on mesothelioma cells in vitro

中皮腫細胞株における dishevelled-3 発現抑制および上皮成長因子受容体チロシンキナーゼ阻害作用による抗腫瘍効果の検討

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 森山 岳

Oncology Letters, volume 15, number 1, 2018 掲載

DOI: 10.3892/ol.2017.7382

アスベスト関連悪性腫瘍である悪性中皮腫は、手術や薬物療法などの治療効果が乏しく予後不良であるため、発癌機序解明と新規治療法開発が求められている。Wnt シグナルの $\beta$ -カテニンを介した古典的経路活性化は、大腸癌などの発癌への関与が示されているが、悪性中皮腫においては、 $\beta$ -カテニンを介さない非古典的経路の関与が推測されている。非小細胞肺癌では、 $\beta$ -カテニン阻害と上皮成長因子受容体チロシンキナーゼ阻害剤 (EGFR-TKI) 併用が抗腫瘍効果を増強し、EGFR-TKI 耐性の克服に有用との報告がある。悪性中皮腫においては、EGFR タンパクが高発現しており、EGFR シグナルと Wnt シグナルの相互作用の関与が推測されている。今回申請者らは、悪性中皮腫における Wnt シグナル伝達遮断と EGFR シグナル抑制による抗腫瘍効果を検討した。

悪性中皮腫細胞として、 $\beta$ -カテニン遺伝子発現を伴う悪性中皮腫細胞株 NCI-H2452 (H2452)、MSTO-211H (211H) と  $\beta$ -カテニン遺伝子を欠失した NCI-H28 (H28) を用いた。悪性中皮腫細胞に、Wnt シグナル伝達体 dishevelled 3 (Dvl-3) siRNA を導入後、EGFR-TKI (ゲフィチニブ) を投与し、タンパク質発現変化、細胞増殖能、コロニー形成能および細胞周期について検討した。

Dvl-3 siRNA 導入にて、H2452 の細胞増殖は抑制されなかったが、211H と H28 の細胞増殖は有意に抑制された。細胞増殖能は、ゲフィチニブ 30 $\mu$ M 暴露にて全ての細胞で増殖が抑制され、Dvl-3 siRNA とゲフィチニブ (5-10 $\mu$ M 以上) 併用にて細胞増殖抑制が増強された。コロニー形成能は、全ての細胞で Dvl-3 siRNA にて有意に抑制されたが、ゲフィチニブ 5 $\mu$ M 併用にて相乗的に抑制された。細胞周期解析では、Dvl-3 siRNA にて全ての細胞で G1 期の細胞割合が増加したが、ゲフィチニブ併用にて G1 期がさらに増加する傾向にあった。Wnt シグナルと EGFR シグナル伝達経路の接点である GSK3 $\beta$  および不活性体であるリン酸

化 GSK3 $\beta$  の発現検討にて、Dvl-3 siRNA にて、全ての細胞でリン酸化 GSK3 $\beta$  減少を認めた。以上、Dvl-3 発現抑制と EGFR-TKI の併用は、悪性中皮腫の細胞増殖とコロニー形成を相乗的に抑制し、細胞周期 G1 期の細胞割合を増加させることを明らかにした。本研究の結果は、Dvl-3 抑制による Wnt シグナル遮断と EGFR-TKI による EGFR シグナル阻害が悪性中皮腫の新規治療戦略になり得る可能性を示した。

第二次審査では、臨床検体での Dvl-3 発現の評価方法、 $\beta$ -カテニン遺伝子欠失細胞において Dvl-3 抑制がコロニー形成能などを抑制する理由、殺細胞性抗癌剤ペメトレキセドと Dvl-3 との関係、悪性中皮腫での EGFR-TKI の位置づけ、Dvl-3 を標的とした新規治療法の可能性などに関する幅広い質疑が行われ、いずれも的確な回答が得られた。本研究は、悪性中皮腫の発癌メカニズム解明や新規治療法開発に繋がる意義ある論文と考えられた。以上より、本論文は学位論文として価値あるものと認定した。