

～ 山田 賞 ～

略 歴



頼 冠名

昭和51年 8月17日生
平成13年 3月31日 岡山大学医学部医学科卒業
平成13年 4月 1日 岡山大学血液腫瘍呼吸器内科 研修医
平成13年 6月 1日 高知県立中央病院内科 研修医
平成15年 6月 1日 岡山大学血液腫瘍呼吸器内科 医員（同総合診療内科、救急部）
平成17年10月 1日 独立行政法人国立病院機構岡山医療センター 呼吸器科 レジデント
平成20年 4月 1日 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 大学院生
平成23年 6月 1日 カリフォルニア工科大学 研究員

研究論文内容要旨

EGFR-TKIは特定のEGFR変異をもつ肺癌患者において非常に有効である。しかしながら、結局はEGFR-TKIに耐性を獲得する。そのうち約50%に二次変異であるT790M変異が関与しているといわれている。この耐性を克服する手法として、EGFR mRNAの3'非翻訳領域に対し3つの標的部位をもつmicroRNA-7 (miR-7) がEGFRを抑制することに注目した。研究に際し2つのEGFR-TKI感受性細胞株 (PC-9、H3255) と、2つのT790M変異を持つEGFR-TKI耐性細胞株 (RPC-9、H1975) を用いた。pre-miR-7-2を配列に含むmiR-7発現プラスミドを作成し、陽イオンリポソームを用い細胞内に導入し、定量PCRおよびdual luciferase assayを用いて発現効率の評価を行った。cell count assayおよびxenograft modelにより増殖抑制効果の評価した。Western blottingにより蛋白発現を評価した。miR-7の発現レベルは導入群において約30倍に達し、luciferase assayにおいて標的配列に対し92%の抑制効果を認めた。miR-7の細胞増殖抑制効果はPC-9およびH3255のみならずRPC-9およびH1975においても観察された。IRS-1、RAF-1、EGFRはこれら4つの細胞株において抑制され、RPC-9およびH1975によるマウスxenograftモデルにおいてmiR-7発現プラスミドを注入した群は著明に腫瘍縮小効果を認めた。残存腫瘍においてEGFR、RAF-1、IRS-1蛋白を評価したがこれも抑制を認めていた。以上の知見により、変異EGFR発がん遺伝子による肺癌ではT790Mによる耐性をきたしたのちも、miR-7発現プラスミドによる治療効果が期待できると示唆される。

最近RNA干渉により特定蛋白の発現を抑制する手法として、生体に元来備わっているmicro RNAによる抑制が近年検討され、分子標的療法の新たなアプローチとして期待されている。本研究においてはEGFRを抑制すると想定されたmicroRNA-7を用い、代表的なEGFR依存性の肺癌細胞、およびそのxenograftにおいて有効性を確認した。従来臨床で知られているようにEGFR-TKIが2次変異で標的蛋白の構造変化によりその有効性を失うのに対し、microRNA-7はRNAの段階でEGFRの非翻訳領域を抑制することによって、2次変異を来した耐性株においても著明に有効であった。また、蛋白発現解析によって、microRNAの多標的性のため、EGFRの下流の複数蛋白において同様に抑制効果が見られた。以上により、本研究は、従来の分子標的療法に耐性を来した肺癌に対し、国産の陽イオンリポソームとプラスミドによるデリバリーを用いて、*in vivo*においてmicroRNA投与によってこれを克服できる可能性を示したという点で有意義であると考えられる。