

## 第二次審査（論文公開審査）結果の要旨

### Inhibitors of ABCB1 and ABCG2 Overcame Resistance to Topoisomerase Inhibitors in Small Cell Lung Cancer

小細胞肺癌における ABC トランスポーター阻害薬による  
トポイソメラーゼ阻害薬の耐性克服

日本医科大学大学院医学研究科 呼吸器内科学分野  
大学院生 大森 美和子

Thoracic Cancer, volume 13, number 14, 2022 掲載

DOI: 10.1111/1759-7714.14527

小細胞肺癌は予後不良な呼吸器疾患であり、エトポシドやイリノテカン塩酸塩水和物などのトポイソメラーゼ阻害薬を用いた化学療法は一定の効果を示すが、薬剤耐性が生じる。トポイソメラーゼ阻害薬の耐性機序は完全に解明されておらず、新規治療戦略の構築が望まれている。今回、小細胞肺癌におけるトポイソメラーゼ阻害薬の耐性機序を明らかにし、耐性克服に向けた新規治療戦略を構築することを目的に研究を行った。

小細胞肺癌細胞株に対して MTS アッセイ法を用いて、エトポシドとイリノテカン塩酸塩水和物活性代謝物 SN-38 に対する薬剤感受性を評価し、感受性細胞 10 株と自然耐性細胞 2 株を同定した。さらに、感受性細胞株の SBC-3 と SBC-5 を用いてエトポシドまたは SN-38 の持続曝露により、エトポシド耐性株 (SBC-3/VR、SBC-5/VR) と SN-38 耐性株 (SBC-3/SR、SBC-5/SR) を樹立した。SBC-3 と SBC-5 の親株および耐性株を用いて RNA シーケンス解析を施行し、同定した耐性因子に関する機能解析を施行した。

10 個の感受性細胞株と 2 個の耐性細胞株を用いた蛋白発現解析では、トポイソメラーゼ 1 と 2 の明らかな発現差は認められなかった。RNA シーケンス解析にて、SBC-3 と SBC-5 の親株と耐性株に発現差がある RNA を抽出した。ABC トランスポーター遺伝子発現、エトポシド耐性株では ABCB1、SN-38 耐性株では ABCG2 が有意に上昇しており、ウエスタンブロット解析にて ABCB1 と ABCG2 の蛋白発現差を確認した。

エトポシド耐性株に対して ABCB1、SN-38 耐性株に対して ABCG2 の siRNA を用いて蛋白発現を抑制したところ、アポトーシス活性の誘導と薬剤感受性の回復傾向が認められた。ABCB1 と ABCG2 を阻害する ABC トランスポーター阻害薬エラクリダーまたはタリキダールとエトポシドまたは SN-38 の併用においても、耐性株のエトポシドまたは SN-38 に対する感受性が回復する傾向にあった。ABCB1 と ABCG2 の特異的発光気質である

rhodamine123 と mitoxantrone を用いて、ABC トランスポーター排出能を評価したところ、エラクリダーおよびタリキダールによって 4 つの耐性株の細胞内の発光基質の取り込みが上昇した。さらに、4 つの耐性株に対するエラクリダー曝露にて、エトポシドまたは SN-38 併用によりアポトーシス活性の誘導と細胞周期 G2-M 停止関連蛋白の上昇が認められた。フローサイトメトリー解析においても、アポトーシス活性の誘導促進が認められ、細胞周期では G2/M 期の割合が高くなる傾向にあった。SBC-3/VR と SBC-3/SR を用いたゼノグラフィトマウスにおいても、エラクリダーとエトポシドまたは SN-38 併用により腫瘍縮小効果が認められた。

以上、小細胞肺癌のエトポシドおよび SN-38 耐性細胞株において ABCB1 と ABCG2 発現が亢進し、ABCB1/ABCG2 阻害薬は薬剤排出を抑制し、アポトーシス活性誘導や G2-M 停止を促進させた。小細胞肺癌のトポイソメラーゼ阻害薬耐性には ABC トランスポーターが関与しており、ABC トランスポーター阻害薬は薬剤耐性克服に向けての新規治療戦略になり得る可能性がある。

第二次審査では、耐性細胞における癌幹細胞との関係、ABCB1/ABCG2 以外の耐性メカニズムについて、耐性細胞にて ABC トランスポーター阻害薬単独では効果が弱い理由、ABC トランスポーター阻害薬の臨床応用の可能性と問題点、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、小細胞肺癌患者の新規治療法開発への可能性などの今後の臨床応用が期待され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。