

# 博士論文審査結果の要旨

学位申請者 中 川 憲 夫

主論文 1 編

Mutations in the RAS pathway as potential precision medicine targets in treatment of rhabdomyosarcoma.  
Biochemical and Biophysical Research Communications 512;524-530, 2019

## 審 査 結 果 の 要 旨

横紋筋肉腫(Rhabdomyosarcoma, RMS)は小児の軟部肉腫の一つであり、近年の集学的治療の進歩により約 80%の長期生存が望めるようになった。しかし、治療の合併症による性腺機能不全や恒常的な臓器機能欠損が深刻な問題となっており、さらなる治療の進歩が望まれている。近年、分子標的薬が多数開発されてきた。それに伴い、発生臓器別に抗がん剤を選択するのではなく、検出された遺伝子変異に応じて分子標的薬を処方するがんゲノム医療 (precision medicine) が進展しつつある。横紋筋肉腫においては、腫瘍間での heterogeneity が注目されており、一部(約 10-20%)において RAS 変異がドライバー変異として報告されている。Ras タンパク質は、細胞周期進行、細胞移動、アポトーシス、老化、および他の生体機能に関与する多くのシグナル伝達経路に関連し、RAS 変異は、これまで血液腫瘍および固形腫瘍の両方において同定されている。近年、発がん性 RAS 変異により異常活性化した Ras シグナル伝達の下流エフェクターを阻害する薬剤が開発され、その抗腫瘍効果が報告されている。

申請者は、Ras シグナル伝達の下流を阻害することで Ras 変異を持つ RMS に対し抗腫瘍効果が得られるという仮説の下、そのメカニズムを検証した。11 種類の RMS 細胞株の NRAS, HRAS, KRAS 各遺伝子の蛋白翻訳領域の全長をサンガー法で解析し、NRAS 変異株を 1 株、HRAS 変異株を 2 株同定した。RAS 変異株と RAS 野生株に対して RAF/MEK 阻害剤 CH5126766(以下, CH)に対する感受性を WST-8 assay を用いて検討したところ、RAS 変異を有する細胞株では細胞増殖抑制効果を認めたが、RAS 野生株では増殖は抑制されなかった。アポトーシスに対する影響を Annexin V assay により検討したが、CH は RAS 変異の有無にかかわらずアポトーシスを誘導しなかった。細胞周期解析では RAS 変異株で濃度依存性に G1 arrest を認めたが、RAS 野生株では変化を認めなかった。ウェスタンブロット法によるシグナル伝達経路の解析では CH は RAS 変異株、RAS 野生株に対してともに ERK のリン酸化を抑制したが、RAS 変異株でのみ p21 を誘導し、リン酸化 Rb を抑制した。

CH の増殖抑制能をマウスのオルソトピックモデルを用いて以下のように検証した。ルシフェラーゼ強制発現 RAS 変異細胞株をヌードマウスの左腓腹筋に移植し、移植 4 週間後より CH (1.5 mg/kg) の経口投与を連日 4 週間行い、ルシフェラーゼ活性を経時的に評価した。CH は 10%以上の体重減少を来すことなく、腫瘍の増大を抑制した。

以上が本論文の要旨であるが、RAF/MEK阻害剤がRAS変異を持つ横紋筋肉腫細胞に対して増殖抑制効果を示すことを証明した点で、医学上価値ある研究と認める。

令和 元年 6 月 20 日

審査委員	教授	松 田 修	㊞
審査委員	教授	黒 田 純 也	㊞
審査委員	教授	加 藤 則 人	㊞