

# 博士論文審査結果の要旨

学位申請者 富 樫 佑 一

主論文 1 編

Anti-relapse effect of trametinib on a local minimal residual disease neuroblastoma mouse model.

Journal of Pediatric Surgery Epub ahead of print, 2021 Mar 26

## 審査結果の要旨

高リスク神経芽腫は、現在でも予後不良である。そのため、新規治療法の開発が喫緊の課題であり、これまでに様々な分子標的薬の研究成果が報告されてきた。MAPK 経路（以下、本経路）は細胞増殖に関わる重要なシグナル伝達経路のひとつで、再発神経芽腫の約 80%に本経路を亢進させる遺伝子変異が報告されていることから、とくに有望な治療標的と考えられている。我々もこれまでに MEK 阻害剤であるトラメチニブ（以下、TR）の神経芽腫に対する *in vitro* および *in vivo* における抗腫瘍効果を確認し、報告してきた。しかし、長期投与実験では、耐性獲得による腫瘍の再増大を防ぐことができなかった。また、予備実験において、TR は腫瘍サイズが小さい場合にしか抗腫瘍効果を発揮できないことも確認され、腫瘍量が大きくなると奏功しにくくなると推察された。そこで申請者は、TR の神経芽腫に対する治療効果を高めるために局所微小残存病変（local-minimal residual disease ; 以下、L-MRD）モデルを作成し、腫瘍全摘後に TR を投与して抗腫瘍効果を検討した。

方法は、まずホタルルシフェラーゼを遺伝子導入した神経芽腫細胞株（SK-N-AS）を、ヌードマウスの左腎被膜下に移植し、その 14 日後に腫瘍全摘出術（左腎摘出術；以下、T）を行い L-MRD モデルを作成した（対照群は 14 日後に sham 手術；以下、S）を行なった。これらのマウスに TR（または DMSO；以下、VE）を術後 2 日目から 1 日 1 回 8 週間経口投与し、腫瘍サイズおよび生存率を解析した。腫瘍サイズについては週に 1 回、*in vivo* imaging system を用いて測定した。また *in vitro* で SK-N-AS に TR（500nM）を投与して、フローサイトメトリーにて細胞周期解析およびアポトーシス解析を行った。

結果、T+TR 群は、投与期間中は局所再発を有意に抑制でき、全てのマウスが生存したのに対し、他群においては有意に短期間で腫瘍の局所再発を認め、局所再発腫瘍増大のために死亡し、以下のような生存率となった（S+TR 群；20%，T+VE 群；17%，S+VE 群；0%）。Log-rank 検定では、T+TR 群は、T+VE 群（ $p=0.002$ ）および S+TR 群（ $p=0.007$ ）の両方と比較して生存率を有意に改善した。一方、S+VE 群と比較すると S+TR 群では生存率が有意に向上し（ $p=0.010$ ）、T+VE 群では有意な差が認められなかった（ $p=0.082$ ）。しかしながら、T+TR 群でも、TR 投与中止直後から急激な腫瘍局所再発が確認された。フローサイトメトリーでは、TR を投与した SK-N-AS で G1 期の細胞がコントロールでの 42%に対し TR（500nM）で治療後は 76%と増加し（ $p=0.030$ ）、有意な G1 arrest を認めた。一方アポトーシス解析では、早期アポトーシス細胞数はコントロールにおける 3.8%に対し、TR（500nM）治療後は 7.0%（ $p=0.13$ ）で、明らかなアポトーシスは認められなかった。以上のことより、今後は併用薬としてアポトーシスを誘導する薬剤、また MEK 阻害剤の耐性獲得を抑制する薬剤などが考えられ、これらの併用薬と使用することで更なる予後の改善が期待できると考えられる。

以上が本論文の要旨であるが、MEK 阻害剤は L-MRD モデルマウスにおいて抗腫瘍効果を示したことより、MEK 阻害剤の至適投与タイミングは、臨床的に、治療過程の維持療法での治療が最も適切であるであることを明らかにした点で、医学上価値のある研究と認める。

令和 3 年 6 月 17 日

審査委員 教授 松田 修 ㊞

審査委員 教授 井上 匡美 ㊞

審査委員 教授 伊東 恭子 ㊞