

論文審査の要旨

報告番号	総研第 270 号	学位申請者	新里 能成
審査委員	主査	夏越 祥次	学位
	副査	中川 昌之	副査
	副査	井上 博雅	副査
			博士 (医学)
			武田 泰生
			佐藤 雅美

Reduction of MLH1 and PMS2 confers temozolomide resistance and is associated with recurrence of glioblastoma

(MLH1 発現抑制とそれに伴う PMS2 の発現低下が神経膠芽腫の TMZ 耐性獲得に寄与する)

近年、Glioblastoma(GBM)に対し、新しい治療薬である temozolomide(TMZ)が用いられ、患者さんの生存期間を延長させる治療効果を挙げている。しかし、一旦は治療効果が見られても再発をきたすため、TMZ に対する耐性機構の解明が重要となっている。また、TMZ に対する治療反応性の指標として

O6-methylguanine DNA methyltransferase (MGMT)が知られている。MGMT プロモーター領域がメチル化を受けておらず、MGMT を発現している症例では TMZ が効きにくいことがわかっているが、約半数の GBM 症例では、MGMT は発現していない。そのような症例を TMZ で治療を行っても、やはり再発をきたすことから、MGMT 以外の TMZ 耐性機構が存在することが示唆される。

今回、学位申請者らは、MGMT プロモーターがメチル化を受け、MGMT が発現していない GBM 細胞株 (U251)を用いて TMZ 耐性株を樹立し、MGMT 以外の TMZ 耐性機構の解明を行った。

その結果、以下の知見が明らかになった。

- ① TMZ 耐性株で MGMT プロモーター領域はメチル化を受けており、MGMT の発現も見られなかった。
- ② TMZ 処理後、親株では時間とともに G2/M arrest が起こるが耐性株では起きず、耐性株において G2/M arrest と密接な関わりを持つ Mismatch Repair(MMR)の機能異常が示唆された。
- ③ MMR の主要な構成因子である MLH1 の遺伝子および蛋白の発現が、3つの耐性株に共通して、親株に比較して低下していた。
- ④ siRNA による MLH1 のノックダウンにより、複数の GBM 細胞株の TMZ に対する感受性が低下した。
- ⑤ MLH1 の発現低下に伴って、MLH1 と二量体を形成する PMS2 の蛋白レベルでの発現低下が見られた。
- ⑥ PMS2 のノックダウンでも GBM 細胞株は TMZ に対する感受性が低下した。
- ⑦ 臨床症例の免疫組織染色を用いた検討で、MLH1 および PMS2 の発現率は、初発群 (46.9 ± 19.1 ; 88.0 ± 7.4 %) に比べて再発群 (19.7 ± 14.8 ; 45.3 ± 27.2 %) で有意に低下していた。しかし、MGMT の発現率は、2群間で有意な変化は見られなかった。

以上の結果より、MGMT は、TMZ に対する耐性獲得、TMZ 治療後の再発に積極的には関与していないと考えられた。また、GBM は、MLH1 発現低下とそれに伴う PMS2 蛋白の発現低下によって MMR の機能を低下させることが、TMZ に対する耐性化・再発に重要であると考えられた。

本研究は、GBM の TMZ に対する新たな耐性・再発機構を証明したものである。よって本論文は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。