

主論文の要旨

**Oxytocin receptor is a promising therapeutic target of  
malignant mesothelioma**

〔オキシトシン受容体は悪性中皮腫における有望な治療標的である〕

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻  
病態内科学講座 呼吸器内科学分野

(指導：橋本 直純 准教授)

小玉 勇太

## 【緒言】

悪性中皮腫は、アスベスト曝露から 30-40 年経過した後に発症する極めて予後不良な難治性腫瘍である。患者数はアスベストの規制が遅れている地域・国々を中心に増加しており、全世界の年間死亡者数は約 4 万人と推定されている。腫瘍の進展が早く、既存の抗がん剤治療に抵抗性であり、診断後の平均生存期間は約 1 年半と極めて短い。近年、組織検体を用いた全エクソーム解析も施行されたが、治療標的となるようなドライバー遺伝子変異は発見されず、分子標的薬による治療も確立されていない。本研究の目的は、悪性中皮腫における有望な治療標的を同定し、新規治療戦略を開発することである。

## 【対象及び方法】

ヒトがん細胞株のデータベースである Cancer Cell Line Encyclopedia (CCLE) と、臨床組織検体のデータベースである The Cancer Genome Atlas (TCGA) を用いて bioinformatics 解析を実施した。また、*in vitro* において WST-1 細胞増殖 assay や細胞周期解析を中心に、悪性中皮腫細胞株と正常中皮腫の不死化細胞株 (MeT-5A) を用いて機能解析を実施し、*in vivo* では xenograft モデルで解析を行った。

## 【結果】

CCLE では、各細胞株あたり 2 万以上の遺伝子の発現レベルが公開されており、中皮腫細胞株 11 株とその他のがん細胞株 1008 株の遺伝子発現を比較した結果、中皮腫細胞株においてオキシトシン受容体 (OXTR) が著しく高発現していることを発見した。TCGA における組織検体の解析でも同様に、他がん腫と比較し、悪性中皮腫で OXTR の高発現を認めた。さらに、TCGA を用いた 87 症例の悪性中皮腫組織における mRNA の発現レベル解析では、低発現症例と比較し約 4 割の症例において、1000 倍以上に OXTR が高発現していた。OXTR 高発現症例には肉腫型が多く含まれたが、全生存期間に対する多変量解析で、OXTR 発現レベルが悪性中皮腫の独立した予後不良因子であることを同定した。また、BAP1 や NF2 などの悪性中皮腫において変異や機能低下がみられることの多いドライバー遺伝子についての解析では、CCLE に登録されているものに加え、我々のグループで樹立した中皮腫細胞株と TCGA に登録されている腫瘍組織検体の両方で、OXTR 高発現群では NF2 が不活化していることが多い傾向にあった。

以上の解析結果に基づき、OXTR の高発現が悪性中皮腫の腫瘍進展を促進するという仮説の下、*in vitro/vivo* で機能解析を施行した。本研究で用いた 14 種類の悪性中皮腫細胞株の中で、50% が MeT-5A と比較して OXTR の mRNA が 30 倍以上高発現しており、これらの 7 株を OXTR 高発現株とし、残りの 7 株を OXTR 低発現株に分類した。OXTR を高発現している複数の中皮腫細胞株に、オキシトシン (OT) を添加すると細胞増殖が促進され、逆に同受容体をノックダウンすると、G1 cell cycle arrest に起因した増殖抑制を引き起こした。また、同検体を用いた遺伝子発現解析では、CDK1・AURKA

といった細胞周期を制御する遺伝子群の有意な低下を認め、*OXTR* が高発現している悪性中皮腫においては、*OT-OXTR* シグナル依存的に増殖を促進する経路が存在することが示唆された。一方で、*OXTR* の発現が低い中皮腫細胞株である NCI-H2452 や MeT-5A においては *OT* を添加しても増殖能に有意な変化はなく、同受容体をロックダウンしても増殖抑制を認めなかった。次に、4 種類の *OXTR* 阻害剤を添加すると、すべての阻害薬において中皮腫細胞株の増殖が抑制され、その効果は *OXTR* に対する阻害定数 ( $K_i$ ) と逆相関している傾向にあった。最も腫瘍抑制効果の高かった *cligosiban* の  $IC_{50}$  は、*OXTR* 低発現株 ( $n=5$ ) と比較し、高発現株 ( $n=5$ ) で有意に低かった ( $p=0.008$ )。 *In vivo* では、ヌードマウスの皮下に *OXTR* 高発現株である NCI-H2052 を移植後、*cligosiban* の抗腫瘍効果を解析した。ヒトに換算した最大耐容量である 60 mg/kg の隔日経口投与により、腫瘍重量は有意に抑制された ( $p=0.021$ )。

### 【考察】

本研究では *OXTR* が悪性中皮腫で高発現しており、*OXTR* のロックダウンもしくは同阻害剤で中皮腫細胞の増殖が抑制されることを発見した。一方で、内因性の *OT* の発現は他がん腫と比較して悪性中皮腫で高発現しておらず、中皮腫においては、*OXTR* の高発現が増殖に重要な役割を担っていると考えられた。他がん腫でも *OXTR* が腫瘍の増殖に関与しているという報告はあるが、*OXTR* の下流の分子メカニズムについては解明されていない。本研究で、中皮腫においては *OXTR* をロックダウンすることで細胞周期を制御する遺伝子の発現低下を認め、TCGA を用いた腫瘍組織の解析では *OXTR* の発現と *CDK1* や *AURKA* などの細胞周期を制御する遺伝子の発現に相関関係を認めたことから、*OXTR* の高発現は細胞周期の進行を促進すると考えられた。

*Xenograft* モデルにおいて、*cligosiban* を投与しても組織の *OXTR* 発現レベルには有意な変化を認めなかったことから、*cligosiban* は *OXTR* の発現には影響を与えず、*OXTR* と *OT* の結合を遮断することで抗腫瘍効果をもたらすと考えられた。*OXTR* 阻害剤の *OXTR* 阻害効果と中皮腫の増殖抑制効果は相関している傾向にあり、抗腫瘍効果を高めるため、さらに *OXTR* 高選択性で阻害作用の強い薬剤の開発が望まれる。

また、中皮腫細胞株の *NF2* をロックダウンすることで *OXTR* の発現が上昇したことから、*NF2* が *OXTR* の発現抑制に関わっている可能性が示唆されたが、中皮腫で *OXTR* が高発現するメカニズムについては今後さらなる検討が必要である。

*OXTR* の発現レベルは有望な分子バイオマーカーであり、悪性中皮腫に対する個別化治療の実現が期待され、そのために、組織における mRNA *in situ hybridization* や免疫組織化学染色などの手法の確立が期待される。

### 【結論】

*OXTR* の高発現が、悪性中皮腫の腫瘍進展に深く関わり、有望な治療標的になりうることを世界で初めて発見した。*OXTR* や同阻害薬は予後のバイオマーカーや中皮腫の個別化治療戦略の選択肢になり得ると考えられる。