

審査の結果の要旨

氏名 山崎 翔太

本論文は二章から構成され、第一章は Collagen type I が誘導する Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) 遺伝子変異陽性のがん細胞における分子標的薬 Epidermal Growth Factor receptor – Tyrosine Kinase Inhibitor (EGFR-TKI) 耐性および耐性の要因となる責任因子の同定、第二章は Collagen type I による責任因子の活性化機序および解明した機構における普遍性について述べられている。

第一章では、がん細胞の分子標的薬剤耐性に Collagen type I が関与し、Collagen type I により特定の因子が活性化することを見出した。本研究では、EGFR 遺伝子変異陽性の肺がん細胞を用いて、Collagen type I が EGFR-TKI 耐性へ関与する事を初めて明らかにした。さらに、責任因子の同定を試みた結果、既報において Collagen type I により活性化が認められた上皮間葉転換や Focal Adhesion Kinase (FAK) を解した Akt や ERK1/2 の活性化を認められなかった。そのため、Collagen type I が誘導するがん細胞の EGFR-TKI 耐性には新規な分子機構が関与している可能性を提示した。そして、細胞の形態変化における観察およびシグナル伝達経路における検討から mTOR を責任因子として見出した。mTOR は、Collagen type I 存在下のがん細胞において非常に強く活性化が認められ、EGFR-TKI と mTOR inhibitor の併用を行った結果、Collagen type I が誘導する EGFR-TKI 耐性の解除が認められた。それに加え、臨床検体を用いた Collagen type I の堆積と EGFR-TKI の奏功における相関の検討では、Collagen type I の堆積が多い検体は EGFR-TKI の奏功性が減弱している事を見出し、Collagen type I による EGFR-TKI 耐性は生体内においても生じている現象である可能性を提示した。以上より、Collagen type I は、EGFR 遺伝子変異陽性肺がん細胞の mTOR を活性化し、EGFR-TKI 耐性を引き起こすことを第一章から提示した。

第二章では、Collagen type I によるがん細胞の mTOR 活性化機序を明らかにし、明らかにした機構における普遍性を明らかにした。本研究では、EGFR 遺伝子変異陽性肺がん細胞株における Collagen type I の細胞内取り込みを明らかにした。それに加え、がん細胞は Collagen type I を細胞内に取り込むことで代謝変化を引き起こすこと、Collagen type I 由来アミノ酸である Hydroxyproline および Proline は mTOR を活性化しがん細胞における EGFR-TKI 耐性を引き起こす事を明らかにした。また、Collagen type I の細胞内取り込み機構を検討した結果、がん細胞はマクロピノサイトーシスにより Collagen type I を細胞内に取り込んでいることが認められた。さらに、マクロピノサイトーシスに重要な因子である Rac1 を抑制下では、Collagen type I による EGFR-TKI 耐性が誘導されない事を明らかにした。これらの結果より、EGFR 遺伝子変異陽性肺がん細胞は、マクロピノサイトーシスによりがん細胞内に Collagen type I を取り込み、mTOR を活性化させることで EGFR-TKI 耐性を示すことが明らかになった。また、Collagen type I はがん細胞内に取り込まれることでがん細胞の代謝変化に寄与する可能性を提示した。それに加え、肺がん細胞以外の細胞を用いて本機構の普遍性を検討した結果、大腸がんおよび食道がん細胞においても同様の現象が認められ、本研究において明らかにした機構は臓器横断的に生じている可能性を提示した。以上より、がん細胞は、Collagen type I をマクロピノサイトーシスにより細胞内に取り込むことで、mTOR

を活性化させ各がん種に対応した抗がん剤に対して耐性を示すことが示唆された。

本研究の考察では、抗がん剤治療における組織の変化による本機構の生体内における意義を議論し、マクロピノサイトーシスによるがん細胞内への物質供給における物質の選択性について様々な可能性を提示した。さらに、**Collagen type I** によるがん細胞の代謝変化における特徴的な代謝産物から、がん細胞の特徴的な代謝経路の可能性を提示した。

本研究では、がん細胞がマクロピノサイトーシスにより **Collagen type I** を細胞内に取り込むことで **mTOR** を活性化し、抗がん剤耐性を示すことを明らかにした。しかしながら、**Collagen type I** が細胞内に取り込まれた後にどのような物質になり、**mTOR** を活性化させるのかおよび本機構における生体内での確認について検討を行っておらず、未知の部分が含まれていると考えられる。そのため、マウスモデル等を用いた解析や同位体標識による検討を重ねていくことにより生体内における本現象の確認および詳細な分子機序が明らかになっていくと考えられる。

本審査発表会では、本論文にもとづき発表を行い、本論文に関わる専門知識を有する審査員による口頭試問が行われた。論文提出者は、自らの知識および研究成果に基づき回答し、論文の内容および論文提出者の専門知識が審査された。これに対して、審査員が全員一致で合格と認めた。

また、本論文の第一章は、樋口洋一、石橋昌幸、橋本弘子、安永正浩、松村保広、土原一哉、坪井正博、後藤功一、落合淳志、石井源一郎、第二章は、**Su Yinghan**、丸山亜美、牧野嶋秀樹、鈴木潤、坪井正博、後藤功一、落合淳志、石井源一郎との共同研究であるが、論文提出者が主体となって解析および検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。したがって、本論文は学位取得に値し、博士（生命科学）の学位請求論文として合格と認められる。

以上 2494 字