

## 審査の結果の要旨

氏名 清水 裕貴

近年、がん化を強力に誘導するドライバーがん遺伝子の存在が明らかとなっており、これらドライバーがん遺伝子陽性がんの克服に向けて数多くの分子標的治療薬が開発され、実臨床で使用されている。一方で、分子標的治療薬に対する薬剤耐性の出現による治療効果の低下が臨床上の課題となっている。全7章から構成された本論文では、肺腺がん患者の約3-5%にて認められる ALK 融合遺伝子陽性肺がんにおける ALK 阻害薬に対する獲得耐性出現機構およびその克服法、そして、大腸がん患者の約10%で認められる BRAF 変異陽性大腸がんにおける初回治療抵抗性に対する克服法についての解析結果と得られた新たな知見が述べられている。

ALK 陽性肺がんにおける研究においては、まず、近年 ALK 陽性肺がんの初回治療薬として本邦でも承認された ALK 阻害薬 Lorlatinib に対する初回治療耐性出現機構と耐性メカニズムの解明に向けて、ALK 融合遺伝子陽性肺がん患者より樹立された複数の細胞株を用いて検討を行っている。なお、患者由来細胞株は公益財団法人がん研究会の倫理審査委員会にて承認されたプロトコールに基づいて同意が得られた ALK 陽性肺腺がん患者より樹立された細胞のみを使用している。まず、ALK 阻害薬感受性細胞株に対して Lorlatinib を比較的短期間処理することにより、可逆的な薬剤抵抗性を示す Drug-tolerant persister (DTP)細胞が樹立された。そして、独自に構築した標的既知の薬剤ライブラリーによるスクリーニングを行った結果、GSK3 阻害剤である LY2090314 が DTP 細胞に対して高い増殖抑制効果を示すことが見出された。さらに、LY2090314 と Lorlatinib を併用することにより、より顕著に DTP 細胞の増殖抑制および細胞死が誘導されることも明らかにし、GSK3 が DTP 細胞の生存に重要であることを新たに発見している。本論文では、ALK 阻害薬治療により一度奏功した後に再発した患者から樹立された ALK 阻害薬耐性細胞も複数使用しており、それらは Lorlatinib に対しても耐性を示すことが確認されており、DTP 細胞の様な可逆性はもはや認められなかった。これらの獲得耐性細胞においても GSK3 阻害剤 LY2090314 は併用することで Lorlatinib に対する薬剤感受性を増強することが示唆され、GSK3 阻害が獲得耐性細胞の増殖抑制および細胞死誘導においても重要であることが明らかにされている。本文第3章にて記載されているこれらの研究成果は、ALK 陽性肺がんにおいて、Lorlatinib に対する獲得耐性細胞と、獲得耐性出現の温床と考えられる DTP 細胞が GSK3 を阻害することで Lorlatinib への再感受性化を誘導できる可能性を示したものであり、Lorlatinib 耐性の克服に向けた重要な知見となると考えられる。

また、BRAF 変異陽性大腸がんにおける研究においては、倫理審査委員会にて承認されたプロトコールに則り、60 を超える BRAF V600E 変異陽性大腸がん症例を収集し、これらの腫瘍における遺伝子異常の解析結果について第1章にて述べられている。そして、BRAF 変異陽性腫瘍より20の患者由来細胞株 (PDC) を樹立し、現在 BRAF 変異陽性大腸がんの治療に応用されて

いる BRAF 阻害剤と EGFR 阻害剤併用療法への薬剤感受性に基づいて、BRAF 変異陽性大腸がんが複数サブグループに分けられる可能性を第 2 章に示している。さらに、本論文では、BRAF 阻害剤と EGFR 阻害剤の併用効果が低い、すなわち、治療抵抗性を示す BRAF 変異陽性 PDC に対する新規治療標的の探索を行っており、一部の PDC では BRAF と Bcl-xL の併用阻害が有効であることを、細胞レベルのみでなく、マウスモデルでも明らかとしたことが第 4 章にて述べられている。さらに、上記とは異なる PDC に対してある VEGFR 阻害活性を持つ阻害剤 X が高い増殖抑制作用を示すことも見出している。興味深いことに、この阻害剤 X に対して高い感受性を示す PDC は、異なる VEGFR 阻害剤に対しては他の BRAF PDC と同程度の感受性であったことが示されており、真の標的が VEGFR 以外に存在する可能性が示唆されている。そこで、阻害剤 X の作用機序をリン酸化プロテオーム解析により調べた結果、Protein Y からのシグナルを阻害剤 X が抑制していることが見出された。さらに、阻害剤 X 感受性細胞において Protein Y のノックダウンは、顕著な細胞生存抑制効果を示すことが示唆され、BRAF と EGFR の併用阻害が有効ではないサブタイプの一部に対して Protein Y が有望な治療標的となる可能性が本章 5 章にて述べられている。本研究成果は、BRAF 阻害剤と抗 EGFR 阻害抗体の併用療法に対しても抵抗性を示す BRAF 変異陽性大腸がんにも有効な新規治療標的を明らかにしており、BRAF 変異陽性大腸がんの克服に向けた重要な知見になることが期待される。

以上のように、本論文は今後の臨床上の課題とされる ALK 陽性肺がんにおける Lorlatinib 耐性、ならびに BRAF 変異陽性大腸がんにおける BRAF 阻害剤と EGFR 阻害剤の併用療法に対する治療抵抗性の克服法を開発する上で意義のある成果であると考えられる。さらに、本論文での研究成果は学位申請者が主体となって遂行したものであり、共同研究であるリン酸化プロテオーム解析においても、学位申請者が共同研究先に出向き、解析方法を学んで本人が解析した結果であることを考慮すると、本論文成果に対する寄与は十分であると判断できる。

よって本論文は博士（医科学）の学位請求論文として合格と認められる。

以上 2 3 6 9 字