

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（ 医学 ）	氏名	徳毛 健太郎
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1・2 項該当		
論文題目 Association between Plasminogen Activator Inhibitor-1 and Osimertinib Tolerance in EGFR-Mutated Lung Cancer via Epithelial-Mesenchymal Transition (Plasminogen Activator Inhibitor-1 は EGFR 遺伝子変異陽性肺癌のオシメルチニブに対する初期耐性に上皮間葉転換を介して関与する)			
論文審査担当者			
主 査	教授	岡田 守人	印
審査委員	教授	武島 幸男	
審査委員	准教授	岡本 渉	
<p>〔論文審査の結果の要旨〕</p> <p>肺癌は世界的に死亡数の多い癌腫の一つであり、病理組織学的には小細胞肺癌と非小細胞肺癌（Non-small cell lung cancer; NSCLC）に分類される。NSCLC の半数を占める腺癌の約半数では、ドライバ―遺伝子変異として Epidermal growth factor receptor (EGFR) 遺伝子変異が検出される。この EGFR 遺伝子変異陽性肺癌に対して、第 1、第 2、第 3 世代の EGFR-tyrosine kinase inhibitor (TKI) が開発されており、第 3 世代のオシメルチニブが初回標準治療薬として使用されている。一方で、第 1、第 2 世代 EGFR-TKI が用いられる症例もあり、これらの薬剤に耐性となった癌細胞の約半数では、Exon20 T790M 変異が検出される。オシメルチニブはこの T790M 変異陽性を有する癌細胞にも抗腫瘍効果を示すため、T790M 変異陽性例に対しても標準治療薬として使用されている。</p> <p>以上のように、オシメルチニブは EGFR 遺伝子変異陽性肺癌に対して幅広く使用されているが、投与開始から十数か月後には癌細胞が耐性を獲得して無効となることが問題である。この耐性獲得の原因として、治療開始直後に残存する初期耐性細胞（Drug Tolerant Cells; DTCs）が注目されている。この DTCs は治療中に耐性を獲得して増殖することにより、腫瘍の再増殖に繋がるものと考えられている。DTCs が生存する機序としては、EGFR 遺伝子 C797S 変異や MET 増幅、さらには Epithelial mesenchymal transition (EMT) の関与が報告されている。オシメルチニブに対する DTCs を駆逐すれば、EGFR 遺伝子変異陽性肺癌の病勢を長期にコントロールすることができるかもしれない。</p> <p>Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) は生理的に線溶系の抑制因子として機能する糖タンパクであるが、動脈硬化や腎臓、肺の線維化に関与していることも報告されている。さらに、種々の癌腫の進展にも関与しており、最近では、EMT を介した化学療法や放射線治療抵抗性への関与も報告されている。</p> <p>以上の背景から、本研究では PAI-1 が EGFR 遺伝子変異陽性肺癌に対するオシメルチニブの DTCs の生存に関与しているかどうか、PAI-1 を治療標的とすることでオシメルチニブ治療中の腫瘍進展を抑制できるかどうかを検討した。</p> <p>まず、EGFR 遺伝子変異陽性 NSCLC 細胞株の H1975 細胞又は PC-9 細胞を IC₅₀ の 30~40 倍の濃度である 0.5 μM のオシメルチニブに 7 日間暴露して DTCs を作成した。これらの DTCs とコントロール細胞において、PAI-1 mRNA と PAI-1 タンパク発現を比較したところ、オシメルチニブに対する DTCs では、コントロール細胞と比較して、PAI-1 の mRNA とタンパク発現が亢進していた。続いて、これらの DTCs の培養液に PAI-1 阻害薬を添加して、PAI-1 の機能を抑制したところ、DTCs の増殖が抑制された。この結果から、DTCs の生存に PAI-1 が関与していることが示唆された。</p> <p>次に、DTCs の生存に PAI-1 が関与する機序を検討するために、DTCs とコントロール細胞用いてマイクロアレイを行ったところ、DTCs はコントロール細胞に比べて、インテグリンを起点とした EMT シグナルと、間葉系細胞のマーカーである</p>			

α SMA やフィブロネクチンなどの mRNA 発現の亢進が認められた。ここで、PAI-1 阻害剤を DTCs の培養液に添加することにより、インテグリンを起点とした EMT シグナルと α SMA やフィブロネクチンの mRNA の発現低下が認められた。以上より、PAI-1 はインテグリンを起点とした EMT 経路を介して DTCs の生存に
関与していることが示唆された。

続いて、H1975 細胞と免疫不全マウスを用いた皮下腫瘍モデルにおいて、オシメルチニブと vehicle を 10 日間投与した後に、腫瘍内の PAI-1 タンパク発現を比較したところ、*in vitro* の結果と同様に、オシメルチニブの DTCs は vehicle 治療群のコントロール細胞よりも PAI-1 を高発現していることが確認された。そこで、同様のモデルにおいて、オシメルチニブ単剤又はオシメルチニブと PAI-1 阻害剤併用投与をしたところ、2.5 ヶ月にはオシメルチニブ単剤群では腫瘍の増大が認められたが、PAI-1 阻害剤併用群では腫瘍の再増大が抑制された。以上の実験結果から、PAI-1 はオシメルチニブ治療中の腫瘍再増大を抑制するための治療標的となり得ることが示された。

本研究結果は、オシメルチニブと PAI-1 阻害剤の併用治療を開発していくための基盤データとなるものと考えられる。

よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。