

氏名	岩井 俊樹		
学位の種類	博士(生物科学)		
学位記番号	博甲 第 8564 号		
学位授与年月日	平成 30年 3月 23日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Studies on Biological Characteristics of Cancer Cells after Acquiring Resistance to Molecular-Targeted Therapy (がん分子標的薬剤に耐性を獲得したがん細胞の生物学的特性に関する研究)		
主査	筑波大学教授	博士(理学)	中田 和人
副査	筑波大学教授	博士(理学)	和田 洋
副査	筑波大学教授	博士(農学)	三浦 謙治
副査	筑波大学准教授	博士(理学)	中野賢太郎

論 文 の 要 旨

近年、悪性腫瘍の治療薬として腫瘍の増殖に寄与する分子を標的とした様々な分子標的薬が用いられている。特に、がん細胞の細胞膜表面に発現し、がん細胞の増殖や転移などに重要な役割を担う分子である上皮成長因子受容体 (EGFR) を標的としたEGFR tyrosine kinase inhibitor (EGFR-TKI) は、肺がんや膵がん治療において単剤療法および化学療法剤との併用療法の有用性が証明されている。EGFR-TKIは高い効果を示す一方で、奏効が得られた症例においてもほぼ必ず腫瘍の再増殖が起こるため、このような耐性ががん細胞の生物学的特性の理解、ならびに、効果的な治療戦略の探索は急務である。一方、がん細胞そのものではなく腫瘍組織中に存在するがん細胞以外の細胞種を標的とした薬剤の開発も進められている。腫瘍が生体内で一定の大きさを超えて増大するには腫瘍血管の存在が必須であることが知られている。腫瘍血管は主に血管内皮細胞で構成されており、血管の形成及び維持には血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) が重要な役割を担っている。そのため、VEGFを標的としたVEGF中和抗体の開発が進められ、大腸がんおよび肺がんをはじめとした複数の腫瘍においてその有用性が証明されている。しかしながら、この場合も、投薬後にVEGF非依存的な腫瘍血管形成が惹起されることが報告され、現在、VEGF中和抗体治療耐性化腫瘍の生物学的特性の解明、および、効果的な治療戦略の探索が行われている。

このような状況の中、著者はEGFR-TKIまたはVEGF中和抗体に対する耐性を獲得したがん細胞および腫瘍の生物学的な特性の解析から薬剤耐性化がん細胞ならびに腫瘍に対する新たな治療方策の探索を行った。まず著者は、VEGF中和抗体耐性機構の解析のため、VEGF発現大腸がん細胞株を用いたxenograft model (HT-29) に1次治療としてVEGF中和抗体を投与し、投与中に腫

瘍増殖抑制効果が認められなくなるVEGF中和抗体耐性獲得モデルを樹立した。このモデルに2次治療として5FU系抗がん剤であるcapecitabine (CAPE) のみを投与する群 (CAPE群) とCAPEとVEGF中和抗体を併用する群 (継続併用群) を設定に両者を比較した結果、著者は継続併用群においてCAPE群よりも高い腫瘍増殖抑制効果が認められることを見出した。また、継続併用群ではCAPE群と比較して有意な腫瘍内血管密度の低下、ならびに、血管新生関連因子であるgalectin-3の発現低下が認められた。腫瘍中VEGFは、耐性獲得後の腫瘍においても産生されており、CAPE群においてその量は有意に増加していたが、継続併用群ではVEGF中和抗体群と同レベルに低下していた。これらの結果から著者は、1) VEGF中和抗体耐性後の腫瘍の生物学的特性としてVEGFは依然として産生されており、2) 併用薬剤 (CAPE等) によるgalectin-3などのVEGF以外の血管新生因子産生抑制効果と、VEGF中和抗体の継続したVEGF阻害効果が相乗的な腫瘍血管新生抑制を誘導しうることを発見した。

次に著者は、EGFR-TKI高感受性細胞株であるHCC827をEGFR-TKIの漸増曝露培養によって耐性化させたEGFR-TKI耐性HCC827TR3細胞株を樹立した。HCC827TR3に加え、EGFR構造変化によるEGFR-TKI耐性肺がん細胞株H1975および側副経路の活性化によるEGFR-TKI耐性肺がん細胞株EBC-1を用い、耐性後のEGFR-TKIのEGFRリン酸化阻害作用を確認した。その結果、HCC827TR3およびEBC-1では阻害効果が認められたが、H1975では認められなかった。また著者は、それぞれの細胞株のxenograft mouse modelを用いて肺がん治療におけるEGFR-TKIの継続併用治療の有用性を評価した。いずれのモデルにおいてもEGFR-TKI単剤の腫瘍増殖抑制効果が認められなかったが、HCC827TR3およびEBC-1ではEGFR-TKIとdocetaxelの併用によりdocetaxel単剤群よりも高い腫瘍増殖抑制効果が認められ、H1975では認められなかった。さらに著者は、EGFR発現肺がん細胞株HPACを用いたxenograft mouse modelに1次治療としてEGFR-TKIを投与したEGFR-TKI耐性獲得モデルを樹立し、継続併用治療の有用性を評価した。このモデルに2次治療としてgemcitabineとEGFR-TKIを併用するとgemcitabine単剤群よりも有意に高い腫瘍増殖抑制効果が認められ、EGFR-TKIは耐性獲得後もEGFRのリン酸化を抑制していた。

これらの結果から著者は、1) EGFR構造変化以外の耐性機構を有するがん細胞の生物学的特性として耐性化後もEGFRの発現が維持されていること、2) EGFRのリン酸化反応をEGFR-TKIで阻害することにより、他の治療薬の腫瘍増殖抑制効果の増強に寄与しうることを発見した。

審 査 の 要 旨

著者は、分子標的薬に対して耐性を獲得してしまったがん細胞や腫瘍においても標的となった分子の発現が維持されていることを見出し、さらにこの現象をもとに、分子標的薬は耐性獲得後のがん細胞や腫瘍においてもそれらの増殖や血管新生を継続的に抑制することができることを分子細胞生物学的に立証した。これまでの抗がん剤治療では、分子標的薬に抵抗性を獲得してしまった後はその分子標的薬の投与を中止し、新たな分子標的薬の探索と投与が必須であると考えられてきた。しかし著者は、得られた成果をもとに、薬剤耐性を獲得した後も標的分子の阻害を継続しつつ、他の薬剤を併用投与するという新たな抗がん治療アプローチを提案するに至っている。このような成果は、がん細胞や腫瘍の生物学的な特性の理解における貢献だけでなく、抗がん治療の基礎研究として学術的な価値がきわめて高い。

平成30年1月30日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士 (生物科学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。