

氏名	森 政道		
学位の種類	博 士 (生物科学)		
学位記番号	博 甲 第 9057 号		
学位授与年月日	平成 31年 3月 25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	Pharmacology Profiles of ALK and FLT3 Kinase Inhibitors against Non-Small-Cell Lung Cancer Cells and Acute Myeloid Leukemia Cells with Cancer Driver Mutations (がんドライバー変異を有する非小細胞肺癌および急性骨髄性白血病細胞に対するALKおよびFLT3キナーゼ阻害剤の薬理作用)		
主査	筑波大学准教授	理学博士	坂本 和一
副査	筑波大学准教授	博士 (理学)	中野 賢太郎
副査	筑波大学教授	博士 (理学)	千葉 親文
副査	筑波大学教授	理学博士	小林 悟

論 文 の 要 旨

本論文は、非小細胞肺癌のドライバー変異 EML4-ALK および急性骨髄性白血病細胞に対するドライバー変異 FLT3 に着目し、それぞれの阻害剤の薬理作用と抗腫瘍効果の解析を行い、その成果について論述している。通常、遺伝子に異常を生じた細胞は生体防御機構により排除されるが、この排除を免れた細胞が遺伝子異常を蓄積して増殖し、腫瘍を形成する。さらに一部の細胞においては、がん遺伝子やがん抑制遺伝子の異常によりがんの悪性度が増加する。がんはこの複数段階の異常を経て発生するヘテロな異常細胞の集団であり、したがって、がんの治療薬を開発する上で、標的の妥当性を細胞レベルで確認するとともに、マクロな視点でがんの生態を理解することが重要である。本論文において著者は、非小細胞肺癌 (NSCLC) のドライバー変異である棘皮動物微小管結合タンパク質様 4 (EML4) と未分化リンパ腫キナーゼ (ALK) の融合タンパク EML4-ALK チロシンキナーゼ、および急性骨髄性白血病 (AML) のドライバー変異である Fms 様チロシンキナーゼ 3 (FLT3) を標的として着目した。著者は、それぞれの阻害剤である ASP3026 とギルテリチニブの薬理作用を解明し、さらにがんの生態における両ドライバー変異キナーゼの役割について明らかにすることを目的とした。

本論文の第一章で著者は、86 種類のチロシンキナーゼを用いて ASP3026 の酵素阻害作用を検討し、ALK を選択的かつ効果的に阻害することを明らかにしている。著者は、EML4-ALK を内在的に発現する NCI-H2228 細胞を用い、ASP3026 が濃度依存的に EML4-ALK リン酸化およびその下流シグナルを阻害し、効果的に細胞増殖を阻害したと述べている。また、NCI-H2228 細胞を皮下に移植したマウスに ASP3026 を経口投与し、ASP3026 が用量依存的に腫瘍増殖を抑制し、3 mg/kg 以上の用量では腫瘍退縮を誘導することを明らかにしている。さらに、*hEML4-ALK* トランスジェニックマウスにおいて、ASP3026 が肺の腫瘍退縮を誘導したと述べている。また、NCI-H2228 細胞を肝臓内に移植したモデルにおいてクリゾチニブの抗腫瘍作用と比較し、ASP3026 がより持続的に腫瘍退縮を誘導したことを明らかにしている。これらの結果から、

ASP3026 は ALK 阻害剤として ALK 変異を有する NSCLC 細胞に対して有効であることを明らかにしたと論述している。

本論文の第二章で著者は、78 種類のチロシンキナーゼを用いてギルテリチニブの酵素阻害作用を検討し、*in vitro* および *in vivo*における抗腫瘍作用を解析している。著者は、ギルテリチニブが FLT3、LTK、ALK および AXL を 1 nM で 50%以上阻害し、特に FLT3 に対する IC₅₀ 値が 0.29 nM であったと述べている。また著者は、cKIT に対する阻害作用は 230 nM と弱いことから、FLT3 と cKIT 阻害作用を併せもつ他の FLT3 阻害剤と血液毒性のプロファイルが異なる可能性があることを指摘している。また著者は、遺伝子内縦列重複変異 FLT3 (FLT3-ITD) を内在的に発現する MV4-11 と MOLM13 細胞を用いて、ギルテリチニブが FLT3 と下流分子のリン酸化を阻害し、細胞増殖を阻害することを明らかにしている。さらに著者は、MV4-11 細胞を皮下に移植したマウスにおいてギルテリチニブが体内に吸収され、腫瘍部位への高い移行性を示したこと、4 週間に渡る経口投与によりギルテリチニブが用量依存的に腫瘍の増殖を阻害または腫瘍を消失させたことを明らかにしている。また著者は、MV4-11 細胞を脛骨内に移植したマウスにおいて、ギルテリチニブが生存率を著しく増加させたと述べている。以上の結果から、著者は、ギルテリチニブは FLT3 阻害剤として FLT3 変異を有する AML 細胞に対して有効性を示すことが明らかにできたと述べている。

本論文で著者は、(1) NSCLC に対する ASP3026 の薬理作用を検討し、ASP3026 が ALK を選択的に阻害し、EML4-ALK を発現した細胞に対して抗腫瘍作用を示したと述べている。また著者は、他の ALK 阻害剤に耐性となっている変異 EML4-ALK に対しても有効性を示したと述べている。さらに著者は、(2) AML に対するギルテリチニブの薬理作用を検討した試験において、ギルテリチニブが FLT3 を選択的に阻害し、変異 FLT3 を発現した AML 細胞を移植した動物モデルで延命作用を示したと述べている。さらに著者は、他の薬剤耐性を示す変異 FLT3 に対しても有効であることを言及している。本論文で著者は、それぞれの阻害剤の薬理作用と抗腫瘍作用および他の阻害剤耐性のモデル動物における有効性を明らかにしており、新規抗がん剤の開発に大きなブレークスルーをもたらしたと述べている。

審 査 の 要 旨

本論文は、非小細胞肺がんのドライバー変異 EML4-ALK および急性骨髄性白血病細胞に対するドライバー変異 FLT3 に着目し、それぞれの阻害剤 ASP3026 とギルテリチニブの薬理作用と腫瘍効果を解析し、(1) ASP3026 が、顕著に ALK 阻害作用と NCI-H2228 細胞移植マウスにおける容量依存的な増殖抑制作用と腫瘍退出作用を示したこと、さらに (2) ギルテリチニブが、*in vitro* および細胞移植マウスを用いた *in vivo* における顕著な抗腫瘍効果をもつことを明らかにしたものである。本論文は、抗腫瘍剤としての阻害剤 ASP3026 とギルテリチニブの有効性を明らかにしたもので、学術的にも大きな意義があるばかりでなく、がん治療に向けた薬剤治療法開発の道を開くもので、その功績は極めて大きい。

平成 31 年 1 月 29 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。