

氏名	小野 尚美		
学位の種類	博 士 (生物科学)		
学位記番号	博 甲 第 9 4 5 3 号		
学位授与年月日	令和2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	Antitumor Activity of the Novel Oral Heat Shock Protein 90 Inhibitor in Mono Therapy and Combination Therapy (新規経口 Hsp90 阻害剤の創製と単剤及び併用による抗腫瘍効果に関する研究)		
主査	筑波大学教授	博士 (医学)	千葉 智樹
副査	筑波大学教授	学術博士	橋本 哲男
副査	筑波大学准教授	博士 (理学)	徳永 幸彦
副査	筑波大学助教	博士 (工学)	鶴田 文憲

## 論 文 の 要 旨

Heat shock protein 90 (HSP90)はタンパク質の構造・機能の制御に関わる分子シャペロンである。HSP90が相互作用するクライアントタンパク質には、プロテインキナーゼやがん遺伝子産物が多く含まれている。HSP90の阻害はクライアントタンパク質を分解に導くため、HSP90阻害剤は腫瘍の増殖に重要な複数の分子を同時に阻害することが期待される。また、腫瘍中のHSP90は、細胞増殖に関わるタンパク質の過剰発現や、変異タンパク質の維持のために、コシャペロンと高次複合体を形成して活性化されていることが知られている。そしてHSP90の発現と予後との相関が報告されるなど、HSP90は抗がん剤の分子標的として注目されている。がんの化学療法は分子標的薬の登場により、副作用の軽減、治療効果の向上は見られるものの、キナーゼ阻害剤の薬剤耐性や再発・転移は依然として臨床上の問題であり、新たな治療戦略が望まれている。薬剤耐性で問題となるドライバージェンや変異タンパク質はHSP90のクライアントであるため、HSP90の阻害により薬剤耐性を克服できる可能性が考えられる。

本論文で著者は、経口可能な新規HSP90阻害剤を創製し、単剤、及び既存の分子標的薬との併用による新たな治療戦略を提唱した。まず第1章で著者は、HSP90の三次元タンパク質構造情報を利用し、バーチャルスクリーニング、フラグメントスクリーニングから見出されたヒット化合物を基に誘導化を進め、新規HSP90阻害剤CH5164840(CH4840)を創出した。CH4840はHSP90に強い親和性を示し、癌細胞内のHSP90への選択性、化合物の癌組織移行性、および癌組織内での継続的な標的阻害を示した。さらにクライアントタンパク質に依存している様々なタイプの腫瘍のマウスゼノグラフトモデルにおいても強い抗腫瘍効果をもつことを示した。次にHSP90のクライアントであり細胞の増殖に重要なHER2に対する既存の分子標的薬トラスツズマブ、ラパチニブとの併用効果を検討した。結果、優れた併用効果が確認できた。さらに、HSP90阻害剤がラパチニブの抗腫瘍効果を増強するメカニズムについて解析した結果、CH4840はラパチニブ単剤で発現が上昇するHER3と結合し、その下流シグナルを阻害することを明らかにした。以上、ラパチニブ単剤では効果を示しにくいがん細胞においてもCH4840は優れた併用効果を示した。

第2章で著者は、上皮成長因子受容体（EGFR）変異などで薬剤耐性が問題となっている肺癌に対して、HSP90 阻害剤の抗腫瘍効果について解析した。肺癌の治療には分子標的薬である低分子EGFR 阻害剤エルロチニブが使用されている。エルロチニブの肺癌細胞株に対する感受性は様々であるが、HSP90 阻害剤はエルロチニブ耐性の細胞に対しても、細胞増殖阻害を示した。更に *in vivo* でも、様々なドライバーゲーンを持つ肺癌モデルに対して、最大耐用量で強い抗腫瘍効果を示した。エルロチニブ耐性であるEGFR T790M 変異を持つNCI-H1975 ゼノグラフトモデルでは、エルロチニブはCH4840 と併用することにより強い抗腫瘍効果を示した。腫瘍中のシグナル伝達経路を解析すると、EGFR やその下流で活性化されるSTAT3, AKT, ERK などのリン酸化が抑制されていることがわかり、CH4840 は複数のシグナル伝達経路を阻害することにより、抗腫瘍効果を示すことが判明した。また野生型EGFR を過剰発現しているNCI-H292 モデルでも、HSP90 阻害剤によるエルロチニブの併用効果について解析したところ、各々単剤では中程度の抗腫瘍効果であるのに対して、併用では腫瘍が退縮するなど、より強い効果を示した。その分子メカニズムを解析したところ、下流シグナルのリン酸化が抑制され、切断型PARP の上昇、つまりアポトーシスの亢進が確認された。またエルロチニブ処理によって上昇するSTAT3 のリン酸化を解析した。STAT3 はリン酸化されると核内へ移行し、転写因子として機能する。そこで、STAT3 の局在を調べたところ、エルロチニブ処理単独では核に局在するリン酸化STAT3 が上昇したが、CH4840 を加えるとそれが抑制された。STAT3 をリン酸化するJAKファミリーについても解析すると、JAK1 がエルロチニブによるSTAT3 のリン酸化に寄与することがわかった。そして、STAT3 又はJAK1 のノックダウンは、エルロチニブの細胞増殖阻害を増強した。JAK1 はHSP90 のクライアントであるため、CH4840 はエルロチニブによって誘導されたJAK1-STAT3 経路を遮断することで抗腫瘍効果を増強したと考えられる。

## 審 査 の 要 旨

本研究で著者は、タンパク質の構造・機能の制御に関わる分子シャペロンHSP90に着目し、その機能阻害ががん治療の新たな治療戦略として有効であることを様々な癌の実験モデル系で示した。本研究で創出された新規阻害剤は、がん細胞に対して高い選択性を持ち、様々ながんの実験モデル系において有効であった。これらの成果は、本阻害剤の優位性を示すものであり、またその開発戦略の秀逸性を示すものである。本研究では抗腫瘍効果のエビデンスを示したのみならず、分子シャペロンの様々なクライアントタンパク質に対する効果も幅広く解析しており、タンパク質の構造・機能制御に関わる分子シャペロンのさらなる機能解析や、クライアントタンパク質を中心としたシグナル伝達機構の基礎及び応用研究の発展に貢献するものとして高く評価できる。

令和2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。