



Title	Targeting yes-associated protein to overcome imatinib resistance in gastrointestinal stromal tumor drug-tolerant persister cells
Author(s)	横内, 隆
Citation	大阪大学, 2026, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/105288
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	横内 隆
論文題名 Title	Targeting yes-associated protein to overcome imatinib resistance in gastrointestinal stromal tumor drug-tolerant persister cells (イマチニブ投与後遺残消化管間質腫瘍におけるYes-Associated Proteinを標的とした治療)
論文内容の要旨 (1891/2000 words) 〔目 的(Objective)〕 進行消化管間質腫瘍 (GIST) においてチロシンキナーゼインヒビター (TKI) は非常に有効な治療であるが、治療中止後に高率に再発を来すことから遺残細胞 (Drug-tolerant persister cells: DTPs) の関与が示唆される。DTPsとは非遺伝的機構により可逆的な薬剤抵抗性を示す少数の細胞集団で、薬剤投与で細胞周期を止め休眠状態で生存し、治療中止を不可にするとともに、後の耐性化につながると考えられている。Yes-associated protein (YAP) は核内に移行することでプロモーター領域に作用し増殖に関連する様々な分子を制御する転写促進因子の一つである。これまで肺癌DTPsにおいて、YAPが活性化していることが報告され、アポトーシ回避や腫瘍微小環境への働きとの関連が指摘されている。しかし、GIST DTPsに関する報告は限られておりYAPの役割は不明である。本研究では、GIST DTPsにおけるYAPの役割を明らかにし、YAPを標的とした新規治療法の開発を目的とした。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 ① <u>GIST DTPsにおけるYAP活性の可逆的変化</u> GIST-T1細胞株にチロシンキナーゼ阻害剤 (イマチニブ) を9日間暴露させGIST DTPsを作成し、感受性試験にてDTPsは親株と比較しイマチニブへの低い感受性を示した。また細胞周期解析ではDTPsは親株と比しG1期割合が高く (93.7% vs. 53.3%)、休眠状態にあった。YAP活性をWestern blotting、蛍光免疫染色を用いて評価したところ、GIST DTPsは親株と比較して核内YAP発現が上昇し活性化していた。イマチニブ投与を中止するとこの上昇したYAP活性は低下し、可逆的な変化を示した。 ② <u>イマチニブ治療後GIST検体におけるYAP活性の評価</u> 術前イマチニブ治療に奏効を示したGIST検体を臨床におけるDTPsと考え、当院において2004年から2020年の期間にGISTに対し切除を行った症例のYAP活性を免疫染色にて評価した。患者群は①術前イマチニブ治療に奏効を示した後に切除が行われた初発GIST 12例②術前治療なしに切除が行われた初発GIST 19例であった。イマチニブ奏効例は無治療と比較し有意にYAP陽性核割合が高かった (32.1% vs. 6.7%, $p<0.01$)。 ③ <u>DTPsにおけるYAP阻害薬のYAP活性低下作用および有効性の評価</u> GIST DTPsにYAP阻害薬であるVerteporfinおよびXAV-939を投与すると核内YAP発現が低下したことをWestern blottingおよび蛍光免疫染色で確認した。薬剤感受性試験にてDTPsはparental cellと比較しYAP阻害剤に対し高い感受性を示した。またYAP阻害剤はDTPsにおいてcaspase活性を上昇させた。 ④ <u>DTPsにおけるYAP阻害薬とイマチニブの併用療法の有効性評価</u> GIST DTPsに対するYAP阻害薬とイマチニブの併用療法の有効性をin vitroおよびin vivoで評価した。In vitroでは、併用療法はイマチニブ単剤治療と比較し治療中止3週間後において有意に細胞増殖を抑制していた。Annexin V assayでは、イマチニブ単剤ではDTPsにアポトーシスを誘導しなかったが (生細胞: 98.0%、早期アポトーシス: 1.5%、後期アポトーシス: 0.4%)、YAP阻害薬verteporfinとイマチニブの併用療法はDTPsにアポトーシスを誘導した (生細胞: 51.3%、早期アポトーシス: 41.9%、後期アポトーシス: 6.8%)。GIST-T1細胞株の異種移植マウスモデルを用いて、細胞実験と同様に併用療法の治療中止3週間後における腫瘍増殖抑制効果を確認した。また、治療終了直後に摘出した皮下腫瘍の免疫染色にて、無治療と比較しイマチニブ単独治療ではYAP陽性核割合が上昇していたが (19.5% vs. 57.6%, $p<0.05$)、YAP阻害薬との併用療法により上昇したYAP陽性核割合が低下していた (57.6% vs. 10.1%, $p<0.01$)。 〔総 括(Conclusion)〕 GIST細胞において、イマチニブ治療後の遺残細胞ではYAP活性が上昇しており、YAP阻害薬はYAP活性を低下させることを確認した。YAP阻害薬とイマチニブの併用療法はin vitroおよびin vivoにおいて腫瘍増殖抑制効果を示し、GISTに対する新規治療戦略となる可能性が示唆された。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 横内 隆				
論文審査担当者		(職)	氏 名	
	主 査	大阪大学教授	土岐 裕一郎	トキ ヒロカズ
	副 査	大阪大学教授	小川 和彦	コガワ ヒロヒコ
	副 査	大阪大学教授	新谷 康	ニイタ ユキ
論文審査の結果の要旨				
進行GISTではTKI中止後に高率に再発することから、休眠状態で生存するDTPsの関与が示唆される。本研究はGIST DTPsにおけるYAP活性の役割を検討した。GIST-T1細胞にイマチニブを投与して作成したDTPsでは核内YAPが上昇し、投与中止で可逆的に低下した。臨床検体でも術前イマチニブ奏効例はYAP陽性核割合が高かった。YAP阻害薬はDTPsの核内YAPを低下させ、親株より高い感受性を示し、アポトーシスを誘導した。さらにYAP阻害薬とイマチニブの併用はin vitro・in vivoで治療中止後の腫瘍増殖を有意に抑制し、上昇したYAP活性も低下させた。以上より、YAP阻害はGISTにおけるDTPs制御の新規治療戦略となり得ることが示された。本研究はGIST治療に新たな知見を提供するものであり、学位論文に値する内容である。				