The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Combined targeting of mTOR and c-MET signaling pathways for effective management of epithelioid sarcoma
Author(s)	伊村, 慶紀
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/51972
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、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

[Format-P02]

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	伊村　慶紀
論文題名 Title	Combined targeting of mTOR and c-MET signaling pathways for effective management of epithelioid sarcoma (類上皮肉腫に対するmTORとc-METを標的とした治療による抗腫瘍効果)

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

類上皮肉腫は肉腫でありながら上皮系分化と間葉系分化を示す比較的稀な高悪性度軟部肉腫である。抗癌剤に対して耐性で高率に局所再発や遠隔転移をきたす本疾患に対する有効な新規治療法の開発が急務である。しかしながら、類上皮肉腫のがん化機構に関わるシグナル伝達系は殆ど不明であり、がん化機構を解明しシグナル伝達系におけるkey moleculeを標的とした新規治療法の開発が望まれる。類上皮肉腫では癌抑制遺伝子のINI-1が欠失していることが特徴的とされ、INI-1欠失がAKT/mTOR経路の活性化をもたらすという報告がある。我々は2つのヒト類上皮肉腫細胞株において，AKT/mTOR経路の恒常的活性化の機序としてHGF/c-MET経路の活性化が寄与していることを新たに見出した。今回、我々は類上皮肉腫に対するmTORとc-METを標的とした治療による抗腫瘍効果を検討した。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

VAESBJと先行研究で我々が樹立したAsra-EPSの2つのヒト類上皮肉腫細胞株を研究対象とした。mTOR阻害剤はすでに腎癌で臨床応用されているRAD001を用い、選択的c-MET阻害剤は進行固形癌で臨床試験中のINC280を使用した。WST-1 assayにて薬剤による細胞増殖抑制効果を調べ、Flow cytometryにより細胞周期を解析した。mTORやc-METの関連タンパクの発現をWestern blotting法にて調べ、培養液中のHGFの分泌量をELISA法にて測定した。腫瘍細胞を背部皮下に移植した担癌マウスを用いて*in vivo*における薬剤の抗腫瘍効果を検討し、臨床検体の免疫組織化学染色を行った。

類上皮肉腫細胞株2株ではヒト皮膚線維芽細胞に比べAKT/mTOR経路の恒常的な活性化が観察された。RAD001は類上皮肉腫細胞株2株に対して濃度依存的にG0/G1 cell cycle arrestを誘導することで、ヒト皮膚線維芽細胞に比べてより強い細胞増殖抑制効果を示した。RAD001は*in vivo*においても腫瘤増大抑制効果を示したが、その効果は限定的で、RAD001投薬群でも緩徐な腫瘤増大傾向を認めた。*in vitro, in vivo*の双方においてRAD001はmTOR下流のS6RPのリン酸化を抑制したが、mTOR上流のAKTのリン酸化の再亢進を認めた。mTOR阻害剤投与に伴うAKTの再活性化は上流のreceptor tyrosine kinase(RTK)の活性化を介してもたらされるとされており、類上皮肉腫細胞株2株の受容体チロシンリン酸化酵素(phospho-RTK)を網羅的に解析したところ、2株で共にc-METの著明な活性化が確認された。2株は培養液中にc-METのリガンドであるHGFを大量に分泌していること、担癌マウスの血中からもヒトHGFが検出されたことから、類上皮肉腫がautocrine的にHGF/c-MET経路を活性化しているものと考えられた。2株においてINC280投与によりc-METと下流のAKTやERKのリン酸化が減弱し濃度依存的に細胞増殖が抑制されたが、mTOR阻害剤と同様にin vivoにおける腫瘍抑制効果は限定的であった。また、2株においてRAD001投与に伴うAKTの再活性化がINC280投与により相殺され、その機序がHGF/c-MET経路の再活性化によるnegative feedbackの解除である可能性が示唆された。2株に対してRAD001とINC280を併用することにより*in vitro, in vivo*において各々の単剤に比してより強い細胞増殖及び腫瘤増大抑制効果が観察された。当科で過去に手術を施行した類上皮肉腫患者6例の臨床検体においても高頻度にHGF(6例/6例)、c-MET(6例/6例)、phospho-MET(5例/6例)、phospho-AKT(6例/6例)のタンパク発現を認めた。

〔総　括(Conclusion)〕

mTOR阻害剤投与に伴う受容体を介したAKTの活性化の亢進は治療抵抗性の要因として報告されている。類上皮肉腫において活性化したHGF/c-METシグナルは下流のAKT/mTOR経路の活性化を生じ腫瘍形成に関与すると共に、mTOR阻害剤に対する治療抵抗性にも関与しているものと考えられた。類上皮肉腫に対してmTOR阻害剤とc-MET阻害剤を併用することで著明な抗腫瘍効果が発揮され、mTORとc-METの両者を標的とした治療が類上皮肉腫に対して新たな治療法となりえる可能性が示唆された。

[Format-H07]

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　伊村　慶紀

論文審査担当者		（職）	氏　名
	主　査	大阪大学教授	吉川秀樹
	副　査	大阪大学教授	野口遵三郎
	副　査	大阪大学教授	和田尚

論文審査の結果の要旨

類上皮肉腫は抗癌剤に耐性で高率に局所再発や遠隔転移を来たす高悪性度の軟部肉腫であるが、その稀少さゆえに類上皮肉腫の発生や進展に関わるシグナル伝達系は殆ど不明である。論文発表者らは、類上皮肉腫においてAKT/mTOR経路が恒常的に活性化しておりその一つの機序としてHGF/c-MET経路の活性化が寄与していることを見出した。mTOR阻害剤はmTORを標的とした分子標的治療薬であるが、類上皮肉腫に対するmTOR阻害剤単剤の抗腫瘍効果は限定的で、類上皮肉腫においてHGF/c-MET経路の活性化がAKT/mTOR経路を介して類上皮肉腫の腫瘍形成に関与すると共にmTOR阻害剤に対する抵抗性にも寄与していることを解明した。論文発表者らは未だに有効な治療法の乏しい類上皮肉腫に対するmTORとc-METの両者を標的とした新規治療法の有効性を示し、この研究成果は英文学術誌Molecular Cancerに掲載された。この研究は今後の類上皮肉腫患者に対する治療に大きく貢献するものと考えられ、学位の授与に値するものと認める。