



Title	Therapeutic potential of TAS-115 via c-MET and PDGFR α signal inhibition for synovial sarcoma
Author(s)	山田, 修太郎
Citation	大阪大学, 2018, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/69440
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

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 山田 修太郎			
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	赤井 真一
	副 査	大阪大学教授	蘭池 章

論文審査の結果の要旨

滑膜肉腫はSS18-SSX融合遺伝子を特徴とし、全軟部肉腫の約10%を占める悪性軟部腫瘍である。若年者の四肢に好発し、5年生存率は50%前後に留まる難治性疾患であり、有効な新規治療法の開発が切望されている。TAS-115はc-MET・PDGFRαを含むmultiple RTKに対する新規阻害剤である。c-METやPDGFRαが滑膜肉腫の増殖や生存に重要であるというこれまでの研究結果に基づき、本研究では*in vitro*、*in vivo*実験系において滑膜肉腫細胞株に対する本剤の抗腫瘍効果と作用機序を解析した。

滑膜肉腫細胞株はYamato-SS、SYO-I、HS-SY-IIを使用し、各細胞株におけるRTKシグナルの活性化状態や細胞増殖を評価し、滑膜肉腫細胞株をc-MET依存群とPDGFRα依存群に分類した。続いて*in vitro*、*in vivo*実験系でc-MET依存群・PDGFRα依存群の双方において、TAS-115による抗腫瘍効果を確認した。作用機序の検討では、TAS-115投与によりG0/G1期での細胞周期停止や、Yamato-SSにおいてはわずかながらアポトーシスを誘導していることを観察した。*in vitro*での薬剤投与実験で、c-MET依存群ではc-MET、PDGFRα依存群ではPDGFRαの脱リン酸化に相関してその下流のシグナルが抑制された。最後に、TAS-115とパゾパニブ（PDGFR/VEGFR/c-kit阻害剤）のc-MET・PDGFRα経路に対する阻害効果を比較した。*in vitro*、*in vivo*実験系で、TAS-115はc-MET・PDGFRαとその下流のシグナルを抑制し、PDGFRαの4つのリン酸化サイトに対する阻害効果はパゾパニブと同等であった。

c-MET依存群の滑膜肉腫においてはc-METシグナルが、PDGFRα依存群の滑膜肉腫ではPDGFRαシグナルが、細胞の増殖・生存に対し重要であると考えられた。TAS-115は単剤でmultiple RTK inhibitorとして働き、c-METのみならずPDGFRα経路の抑制を介して両群の滑膜肉腫に対し効果を発揮することが明らかとなった。

以上の研究は、難治性悪性疾患である滑膜肉腫の生物学的特性の解明に貢献し、滑膜肉腫の新規治療の開発に寄与するところが多い。したがって本研究は博士（医学）の学位授与に値すると思われる。

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	山田 修太郎
論文題名 Title	Therapeutic potential of TAS-115 via c-MET and PDGFR α signal inhibition for synovial sarcoma (滑膜肉腫に対するc-METおよびPDGFR α シグナル抑制を介したTAS-115の抗腫瘍効果)
論文内容の要旨 〔目的(Purpose)〕 滑膜肉腫は18番染色体とX染色体の染色体転座により生じるSS18-SSX融合遺伝子特徴的であり、全軟部肉腫の約10%を占める比較的頻度の高い悪性軟部腫瘍である。外科的切除・化学療法を組み合わせた治療が行われるが、5年生存率は未だ50%前後に留まる極めて予後不良の難治性疾患であり、有効な新規治療法の開発が切望されている。 我々はphospho-receptor tyrosine kinase (RTK) arrayの結果に基づき、ヒト滑膜肉腫細胞株においてはc-METやPDGFRαが活性化されており、これらのシグナルが滑膜肉腫の増殖・生存に対して促進的に働いている可能性を報告してきた。今回使用するTAS-115は、c-MET・PDGFRαを含むmultiple RTKに対する新規阻害剤である。過去に胃癌や肺癌細胞株に対する有効性が報告されているが、肉腫における効果は明らかでない。本研究の目的は<i>in vitro</i>、<i>in vivo</i>実験系において、滑膜肉腫細胞株に対する本剤の抗腫瘍効果と作用機序を明らかにすることである。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 滑膜肉腫細胞株はYamato-SS、SYO-1、HS-SY-IIの3株を使用した。まず各々の滑膜肉腫細胞株の増殖・生存に対して重要なRTKを同定するため、各細胞株におけるc-METおよびPDGFRαのリン酸化状態をイムノブロット法で観察した。次に各細胞株にc-MET・PDGFRαに対するsiRNAを導入し、細胞増殖を評価した。c-METのリン酸化はYamato-SSにのみ認められたが、PDGFRαのリン酸化は3つの細胞株すべてで確認された。Yamato-SSではc-METの、SYO-1・HS-SY-IIではPDGFRαのサイレンシングで細胞増殖が著明に抑制された。これに基づき、我々は滑膜肉腫細胞株をc-MET依存群と、PDGFRα依存群に分類した。 続いてTAS-115の<i>in vitro</i>における細胞増殖抑制効果をWST-1 assayで評価し、<i>in vivo</i>ではYamato-SS、SYO-1の担癌マウスモデルを用いて、本剤投与による腫瘍増大抑制効果を検討した。<i>in vitro</i>では薬剤に対する感受性はやや異なるものの、いずれの細胞株でも本剤による細胞増殖抑制効果が認められた。<i>in vivo</i>においても、Yamato-SS (c-MET依存群)、SYO-1 (PDGFRα依存群)の双方で、本剤による著明な腫瘍増大抑制効果を認めた。 TAS-115の作用機序を解析するため、本剤の細胞周期に対する影響をフローサイトメトリーにて評価し、c-MET・PDGFRαのリン酸化とその下流 (PI3K/AKT、MAPK経路) のシグナル変化やアポトーシスの誘導効果をイムノブロット法にて観察した。本剤の投与により、いずれの細胞株においても濃度依存的なG0/G1 cell cycle arrestが認められた。<i>in vitro</i>での薬剤投与実験で、Yamato-SSではc-MET、SYO-1・HS-SY-IIではPDGFRαの脱リン酸化に相関した下流のシグナル抑制が観察された。Yamato-SSではわずかながらアポトーシスの誘導も観察された。 最後に、TAS-115と、既存の分子標的治療薬であるバゾパニブ (PDGFR/VEGFR/c-kit阻害剤) のc-MET・PDGFRα経路に対する阻害効果を比較した。<i>in vitro</i>、<i>in vivo</i>実験系で、バゾパニブはc-METを脱リン酸化しなかったが、PDGFRαとその下流のシグナルを抑制した。これに対して、TAS-115はc-MET・PDGFRαとその下流のシグナルを抑制し、PDGFRαの4つのリン酸化サイトに対する阻害効果はバゾパニブと同等であった。 〔総括(Conclusion)〕 Yamato-SS (c-MET依存群) においてはc-METシグナルが、SYO-1・HS-SY-II (PDGFRα依存群) ではPDGFRαシグナルが、細胞の増殖・生存に対し重要であると考えられた。TAS-115は単剤でmultiple RTK inhibitorとして働き、c-METのみならずPDGFRα経路の抑制を介して両群の滑膜肉腫に対し効果を発揮した。	