OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	TAS-116 inhibits oncogenic KIT signalling on the Golgi in both imatinib-naïve and imatinib-resistant gastrointestinal stromal tumours
Author(s)	斎藤, 百合奈
Citation	大阪大学, 2020, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/76442
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　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	斎藤　百合奈
論文題名 Title	TAS-116 inhibits oncogenic KIT signalling on the Golgi in both imatinib-naïve and imatinib-resistant gastrointestinal stromal tumours (TAS-116はイマチニブ感受性および耐性GISTのゴルジ体におけるKITのシグナルを抑制する)

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

KITチロシンキナーゼの機能獲得型遺伝子変異が原因であるGISTに対するイマチニブ治療は高い臨床効果を示し分子標的治療薬の成功モデルとなっている。しかし、一方で長期投与に伴う耐性の出現が臨床上の課題となっている。耐性GISTの多くの症例でKITの二次遺伝子変異をみとめ、KITの再活性化がその原因とされる。近年、シャペロン分子Heat Shock Protein(HSP) 90を標的とした治療が注目されている。HSP90のクライアント蛋白であるKITが増殖に関与しているGISTにおいてもその効果が期待される。本研究では、有害事象の発現を抑制するためHSP90α/βの選択性を高めた新規HSP90阻害薬であるTAS-116によるイマチニブ耐性GISTに対する治療効果およびその作用メカニズムについて明らかにすることを目的とした。さらに、前臨床モデルであるヒトGIST腫瘍異種移植を用いたTAS-116の有効性を検討した。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

①GIST細胞株に対するTAS-116の増殖抑制効果

イマチニブ感受性細胞株GIST-T1、イマチニブ耐性のうち二次遺伝子変異を有しKIT依存細胞株GIST-R8、R9、変異を有さずKIT非依存のGIST-R2を用いて検討を行った。これら細胞株に対して、TAS-116投与72時間後にWST-8法を用いてProliferation assayを行ったところ、KIT非依存のGIST-R2を除く全ての細胞株において濃度依存的に増殖抑制効果を認めた。さらにWestern Blottingを用いた解析の結果、TAS-116の濃度依存的にKITならびにリン酸化KITの発現抑制効果を認めた。さらに、Caspase3/7活性をLuminescence assayを用いて評価したところ、TAS-116の投与によりアポトーシスの誘導を確認した。

②TAS-116の増殖抑制メカニズムの検討

GIST細胞のKITおよびリン酸化KITとゴルジ体、小胞体の細胞内免疫染色を行い、共焦点顕微鏡で観察した。TAS-116投与前のGIST細胞において、KITの小胞体、ゴルジ体での局在を確認する一方で、リン酸化KITは、ゴルジ体のみに存在していることを確認した。TAS-116投与により小胞体のKITには変化は認めないものの、ゴルジ体においてKITが減少し、リン酸化KITはTAS-116投与により消失することを確認した。以上の結果から、TAS-116はゴルジ体におけるKITの安定に関与しており、TAS-116投与によりゴルジ体に局在するKITが分解され、リン酸化KITを介したGIST増殖シグナルが抑制され、増殖抑制効果を認めることが示唆された。

③動物モデルを用いたTAS-116の治療効果

イマチニブ感受性およびイマチニブ耐性GIST細胞株の皮下移植による異種移植マウスを作成し、イマチニブ、TAS-116の治療効果について検討した。イマチニブ投与により、GIST-T1の皮下腫瘍は治療効果を認めたが、イマチニブ耐性株GIST-R8および-R9においては皮下腫瘍の増殖抑制効果を認めなかった。一方、いずれのモデルにおいてもTAS-116投与群は、HPMC投与群(コントロール群)と比較して抗腫瘍効果を認めた。TAS-116投与群の治療後腫瘍は、免疫染色でKITの発現の低下を認め、Western BlottingではKITのリン酸化及びAKT/p44/42MAPKのリン酸化の抑制を認め、*in vitro*と同様の結果を得た。また、TAS-116投与によって、Ki-67の発現が著明に低下し、TUNEL染色によってアポトーシスへの誘導を確認した。

〔総　括(Conclusion)〕

イマチニブ耐性GISTに対してTAS-116を投与することによりゴルジ体のKITが消失し、KITのリン酸化及びPI3K、p44/42MAPK経路を抑制することによってアポトーシスを誘導し、抗腫瘍効果を認めることを明らかにした。またイマチニブ耐性GIST細胞株の皮下移植マウスモデルにおいてもTAS-116は抗腫瘍効果を認め、TAS-116は臨床応用が期待される新規治療薬である。

論文審査の結果の要旨及び担当者

斎藤　百合奈

論文審査担当者	（職）	氏　名
主　査	大阪大学教授	土岐 祐一郎
副　査	大阪大学教授	菊池 章
副　査	大阪大学特任教授	石井 秀始

論文審査の結果の要旨

GISTに対するイマチニブ治療は高い臨床効果を示す一方で、耐性の出現が問題とされ新規治療法の開発が課題である。本研究では、イマチニブ耐性GISTに対し、Heat Shock Protein (HSP)90阻害薬であるTAS-116の効果および作用機序を調べることを目的とした。

TAS-116投与により、イマチニブ耐性GIST細胞株の増殖抑制効果を確認した。さらに、細胞内免疫染色を用いて、ゴルジ体に局在するKITおよびリン酸化KITが、TAS-116投与により著明に減少していることを発見した。その結果、KITとその下流のAKT、ERKのシグナルを抑制し、アポトーシスの誘導を確認した。また、皮下腫瘍移植モデルマウスにおいても、TAS-116は抗腫瘍効果を認めた。

以上の結果をもとにHSP90はゴルジ体におけるKITの安定に関与し、TAS-116投与のイマチニブ耐性GISTに対する抗腫瘍効果を明らかにした。

以上の新知見において学位に値すると考える。