



TITLE:

Yes-associated protein 1 mediates initial cell survival during lorlatinib treatment through AKT signaling in ROS1-rearranged lung cancer( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Yamazoe, Masatoshi

---

CITATION:

Yamazoe, Masatoshi. Yes-associated protein 1 mediates initial cell survival during lorlatinib treatment through AKT signaling in ROS1-rearranged lung cancer. 京都大学, 2023, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2023-05-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k24788>

RIGHT:

京都大学	博士 (医学)	氏名	山添正敏
論文題目	Yes-associated protein 1 mediates initial cell survival during lorlatinib treatment through AKT signaling in ROS1-rearranged lung cancer (ROS1 融合遺伝子陽性肺癌において YAP1 は AKT 経路を介してロルラチニブ治療からの初期生存を制御する)		
(論文内容の要旨) 肺癌におけるドライバー遺伝子変異・転座の一つである ROS1 (ROS proto-oncogene 1, receptor tyrosine kinase) 融合遺伝子が発見され、ROS1 阻害剤が開発されてきた。しかしながら、ROS1 阻害剤は一旦は高い抗腫瘍効果を示すが、腫瘍はやがて ROS1 阻害剤に耐性を獲得し、再発・増大する。そのため、この獲得耐性の克服を目指した研究がこれまで多く行われてきたが、薬物治療による進行期 ROS1 陽性肺癌の根治は未だ達成できていない。この課題に対し、治療初期において少数の癌細胞が分子標的薬治療に耐え、生存する現象 (初期生存) が近年注目されている。初期生存を防止し癌細胞を根絶することができれば、獲得耐性の発生を未然に防ぐことができ、進行期肺癌の根治を達成し得る。しかしながら、ROS1 陽性肺癌における ROS1 阻害剤からの初期生存機序は不明な点が多い。そこで本研究は ROS1 陽性肺癌において、ROS1 阻害剤であるロルラチニブ治療からの初期生存機序を同定することを目的とした。 京都大学医学部附属病院に通院する 1 人の ROS1 陽性肺癌患者から癌細胞を採取し、ロルラチニブ感受性細胞株 (KTOR71) を樹立した。KTOR71 細胞にロルラチニブを曝露すると細胞伸長変化が確認され、プロテオーム解析の結果からも細胞骨格や細胞接着の変化が示唆された。以前に、他のドライバー遺伝子転座である ALK (anaplastic lymphoma kinase) 陽性肺癌においても ALK 阻害剤治療によって ROS1 陽性肺癌と同様の細胞形態変化が認められ、YAP1 (yes-associated protein 1) が ALK 阻害剤治療からの初期生存規定因子として同定されたことから、ROS1 肺癌におけるロルラチニブ治療からの初期生存規定因子の候補として YAP1 に着目した。 YAP1 は Hippo 経路の主要エフェクターとして機能する転写共役因子で、活性化すると核内に移行する。免疫蛍光染色を用いて、YAP1 の局在を評価したところ、ロルラチニブ治療による YAP1 の活性化が確認された。また、YAP1 の機能解析を行ったところ、KTOR71 細胞において、siRNA を用いた YAP1 ノックダウン、ベルテポルフィンを用いた薬剤での YAP1 阻害のいずれも、ロルラチニブへの感受性を亢進した。 次に、ROS1 の下流にある細胞増殖・抗アポトーシスをもたらす PI3 キナーゼ/AKT 経路のシグナル活性について解析した。その結果、①ロルラチニブ治療下で AKT が再活性化すること、②YAP1 を阻害すると AKT の再活性化が抑制されること、③AKT を阻害すると YAP1 を阻害した場合と同様にロルラチニブへの感受性が亢進することが確認された。これらの結果から、活性化した YAP1 は AKT の再活性化を介して細胞生存を促進していることが示唆された。 さらに、免疫不全マウスに KTOR71 細胞を皮下注射して異種移植モデルを作成し、ROS1 と YAP1 を標的とした治療が有効かを <i>in vivo</i> で検討した。ロルラチニブとベルテポルフィンの併用療法は、ロルラチニブ単独療法と比較して、治療終了後の腫瘍の再増大を有意に抑制した。 以上の結果から、ROS1 陽性肺癌において YAP1 が AKT 活性を制御することで、ロルラチニブ治療からの初期生存を制御している可能性が示唆された。			

(論文審査の結果の要旨)

進行期 ROS1 (ROS proto-oncogene 1, receptor tyrosine kinase) 融合遺伝子陽性肺癌の根治のためには、治療初期に一部の癌細胞が ROS1 阻害剤治療に耐え、生存する現象 (初期生存) の防止が重要であるが、ROS1 阻害剤からの初期生存機序は未だ十分には解明されていない。本研究では、ROS1 阻害剤であるロルラチニブからの初期生存因子の候補として YAP1 (yes-associated protein 1) に着目した。まず、1 人の ROS1 融合遺伝子陽性肺癌患者から樹立した細胞株において、ロルラチニブ曝露によって YAP1 が活性化することを確認した。次に、YAP1 阻害によって、ロルラチニブへの感受性が亢進することを *in vitro* で確認した。また *in vivo* においても、ロルラチニブと YAP1 阻害薬の併用療法は、ロルラチニブ単独治療と比較して、治療終了後の腫瘍の再増大を有意に抑制した。また、YAP1 は AKT 経路を介して細胞生存を促進していることを明らかにした。

以上の研究は YAP1 がロルラチニブ治療からの初期生存に関与するという初めての報告であり、ロルラチニブ治療からの初期生存機序の解明に貢献し ROS1 融合遺伝子陽性肺癌の治療の発展に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和 5 年 3 月 30 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降