

## 論文審査の結果の要旨

活性型がん遺伝子 **BRAF** によるストレス適応応答制御機構の解明と  
治療への応用

**Regulation Mechanisms of Stress Response by Oncogenic BRAF**

論文提出者 永澤 生久子 (Nagasawa, Ikuko)

腫瘍組織は血流不足、酸素不足、およびグルコースやアミノ酸等の栄養素不足といった特徴的な微小環境にさらされている。がん細胞はこのようなストレス環境下において、代謝ストレス適応応答機構 (integrated stress response: ISR) を活性化して生存を可能にしている。この機構はがん治療においても見られる。本研究の発端となった、**BRAF** 変異型メラノーマ患者の治療において、選択的 **BRAF** 阻害剤 **vemurafenib** (商品名 **Zelboraf**) は奏効率 60-80% の高い治療効果が報告されているが、完全にごん細胞を死滅させることはできず、最終的には、**vemurafenib** 耐性を獲得したがん細胞が再び増殖する。本研究はこの現象の機構の解明及び **ISR** の役割を担っている **ATF4** の選択的阻害剤の探索を目的に、活性変異型がん遺伝子 **BRAF<sup>V600E</sup>** (600 番目のアミノ酸残基のバリンがグルタミン酸に置換したもので、**Ras** 非依存的な恒常的活性化により野生型 **BRAF** に比べ 500 倍のキナーゼ活性を有していると考えられている) を発現している細胞と **BRAF** 阻害剤 **vemurafenib** を用いて行った。

本研究の成果は、次の3項目に要約される。

1. BRAF 阻害剤 vemurafenib は、BRAFF<sup>V600E</sup> 変異型細胞選択的にストレスセンサー分子としてアミノ酸飢餓を感知する GCN2 を介して、転写因子 ATF4 発現を誘導し ISR を活性化させることを明らかにした。この結果は、vemurafenib の作用に対して BRAFF<sup>V600E</sup> 変異型細胞は細胞防御的に機能することを明らかにした。この研究に対する先行研究では、ストレスセンサー分子として小胞体ストレスを感知する PERK を介しているという説を修正するものである。

2. Vemurafenib が ISR を活性化させてしまい治療効果に問題が生じている点に着目して、vemurafenib による ATF4 発現誘導を抑制する低分子化合物を 355 種のキナーゼ阻害剤ライブラリーを用いて探索を行った。ATF4 発現を強く抑制したキナーゼ阻害剤には、mTOR 阻害剤や PI3K 阻害剤が多く含まれていた。しかし、これらは、すべてのストレス処理条件下において、ATF4 発現誘導を阻害したことから、vemurafenib に選択的な作用ではなかった。これに対し、AT9283 (JAK2/3 阻害剤) は vemurafenib 処理によって誘導される GCN2 のリン酸化を選択的に抑制し、L-histidinol 処理による GCN2 の活性化及び 2DG (2-deoxy-D-glucose) と tunicamycin 処理による PERK の活性化は抑制しなかった。この結果は、vemurafenib 単独投与において活性化されてしまう ISR を AT9283 が選択的に阻害することから、vemurafenib と AT9283 の併用療法は BRAF 変異型メラノーマ患者の治療の改善を示唆する臨床的にも価値のある成果である。

3. BRAFF<sup>V600E</sup> 変異型細胞を rapamycin (mTORC1 は阻害するが mTORC2 は阻害しない) 及び L-histidinol で処理 (併用) すると GCN2 と eIF2 $\alpha$  のリン酸化抑制、及び ATF4 発現誘導の強い阻害が認められたことから、BRAF ストレス適応応答に関して新たに mTORC1 を介した ATF4 発現のメ

カニズムを見出した。さらにこれとは別に eIF4B が関与している ATF4 発現のメカニズムも見出している。

以上の研究成果は vemurafenib による ISR の活性化機構を明らかにしたばかりでなく、その機構を特異的に阻害する低分子化合物を見出した。この研究成果は vemurafenib を用いる BRAF 変異型メラノーマ患者の治療の改善に大変有用である。さらに活性変異型 BRAF による ISR 活性化の分子機構においても新たな知見が得られたことから、本論文は博士（薬科学）の学位に十分値するものと認められる。

平成 29 年 2 月 28 日

主査 明治薬科大学 教授

小山 清隆 印

副査 明治薬科大学 教授

石井 一行 印

副査 明治薬科大学 教授

紺谷 圈二 印