

氏名	たかはし みずき 高橋 瑞希
学位の種類	博士(薬学)
学位記番号	博士甲 第 号
学位授与の日付	2023年7月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	活性化変異型 EGFR/PI3K による非小細胞肺癌細胞株のストレス 応答の制御
論文審査委員	(主査) 教授 三澤 日出巳 (博士(薬学)) (副査) 教授 有田 誠 (博士(薬学)) 教授 齋藤 義正 (博士(医学))
慶應義塾大学学位規程第11条に基づく審査委員会実施日：2023年6月27日	

論文内容の要旨

1. 研究の背景

細胞は、外因性及び内因性のストレスに応答して適応する機構を持っている。統合的ストレス応答 (Integrated stress response; ISR) は、アミノ酸欠乏、小胞体ストレス、鉄欠乏及びウイルス感染などのストレスに対する応答機構である。ISR では、これらのストレスに反応して、general control non-derepressible 2 (GCN2)、protein kinase R-like endoplasmic reticulum kinase (PERK)、heme-regulated inhibitor (HRI)、protein kinase R (PKR) の4種類の eukaryotic initiation factor 2 α (eIF2 α) キナーゼの活性化が起こる。例えば、アミノ酸欠乏ストレスに対しては、通常 aminoacyl tRNA synthetase を介してアミノ酸と結合している uncharged tRNA が、アミノ酸から離れた遊離状態となって GCN2 と結合することで、GCN2 の活性化が誘導される。これらの eIF2 α キナーゼが eIF2 α の 51 番目のセリンをリン酸化すると、細胞全体のタンパク質の翻訳が抑制される一方で、upstream open reading frames (uORFs) を介した転写因子 activating transcription factor 4 (ATF4) の翻訳の亢進が起こる。ATF4 は、アミノ酸代謝や protein folding などに関連するストレス応答遺伝子を誘導し、細胞の適応応答に寄与する。

腫瘍は栄養飢餓などのストレス状態にあると考えられており、ISR が腫瘍の形成・進展や治療抵抗性などに関与することが指摘されている。実際に、大腸がん、肺がん、乳がんなど種々の腫瘍で、GCN2 の発現量およびリン酸化の亢進が報告されている。また、ゼノグラフトモデルにおいて、GCN2 または ATF4 のノックダウンは、腫瘍の増殖を阻害することが報告されている。また、がん遺伝子産物と ISR との関連についても研究が進んでいる。慢性骨髄性白血病細胞の BCR-ABL を阻害することにより、GCN2

経路及び PERK 経路の活性化と ATF4 の発現誘導が阻害された。悪性黒色腫細胞の活性化変異型 BRAF の阻害、及び非小細胞肺癌細胞の活性化変異型 KRAS の阻害は、アミノ酸欠乏により誘導される ATF4 の発現を抑制した。以上より、がんの発生・増殖に重要な BCR-ABL、BRAF、KRAS などのドライバーがん遺伝子産物は、ISR 経路と相互作用し ATF4 の発現亢進に寄与すると考えられている。

肺がんは、本邦で死亡数が最も多いがんである。肺がんの 85%は非小細胞肺癌 (non-small cell lung cancer; NSCLC) であり、中でも腺がんは肺がん全体の 50-60 % を占める。日本人の肺腺がんでは、約 50%に EGFR の活性化変異が認められる。EGFR は、下流の RAS-RAF-MEK-MAPK 経路の活性化、PI3K-AKT-mTOR 経路の活性化を介して、がん細胞の生存・増殖を制御し、腫瘍の増殖に寄与する。活性化変異型 EGFR は、日本を含む東アジアで非常に多く、がん治療の標的として重要である。

これまで、EGFR 活性化変異陽性 NSCLC に対して、gefitinib、erlotinib などの EGFR の tyrosine kinase の阻害剤が用いられてきた。その後、gefitinib、erlotinib に耐性な T790M 変異を有する活性化変異型 EGFR が報告され、現在の日本では、T790M 変異型 EGFR にも有効な osimertinib が、活性化変異型 EGFR を有する非小細胞肺癌の第一選択となっている。上記のように、ドライバーがん遺伝子産物は、ISR 経路と相互作用し ATF4 の発現亢進に寄与すると考えられるが、活性化変異型 EGFR による ISR の制御機構については、まだ研究が進んでいない。

phosphoinositide 3-kinase (PI3K) は、細胞膜上の phosphatidylinositol biphosphate (PIP2) をリン酸化し、下流の AKT や mTOR にシグナルを伝達する。class-1A PI3K は、制御サブユニット p85 と触媒サブユニット p110 がヘテロダイマーを形成して機能する。p110 は α 、 β 、 δ のいずれかで構成される。EGFR に活性化変異を有する肺腺がんの約 10%で、PI3K の活性化変異が認められている。これまでに、PI3K が PERK 経路の活性化に寄与していることが示唆されているが、活性化変異型 PI3K の、アミノ酸欠乏ストレスで誘導される GCN2 の活性化と ATF4 の発現誘導に対する影響については検討されていない。

本研究では、このような背景のもと、肺がん細胞における ATF4 の制御機構の解明を目的とし、EGFR に活性化変異を有する肺がん細胞株、PI3K に活性化変異を有する肺がん細胞株、EGFR と PI3K の両者に活性化変異を有する肺がん細胞株を用いて、これらの活性化が ISR およびがん細胞の生存と増殖に与える効果について研究を行った。

2. 結果と考察・展望

2-1. 活性化変異型 EGFR によるストレス応答の制御

2-1-1. EGFR 阻害剤による ATF4 発現誘導抑制効果

EGFR に L858R の活性化変異と T790M の耐性変異を有するヒト肺がん HCC827 細

胞および exon 19 欠失の活性化変異を有するヒト肺がん NCI-H1975 細胞の培養に、histidyl-tRNA synthetase を阻害してアミノ酸欠乏ストレスを誘導する histidinol を添加して、免疫蛍光染色法により両細胞における核内の ATF4 発現の増大が認められた。これに EGFR 阻害剤 osimertinib を併用すると、HCC827 細胞の ATF4 発現は大きく抑制された。NCI-H1975 細胞の ATF4 発現も抑制されたが、その抑制レベルは HCC827 細胞より小さかった。

次に、この両細胞の培養に、細胞外の asparagine を分解してアミノ酸欠乏ストレスを誘導する L-asparaginase を添加したところ、western blot により両細胞における ATF4 発現の増大が認められた。これに EGFR 阻害剤 osimertinib を併用すると、HCC827 細胞の ATF4 発現は大きく抑制された。NCI-H1975 細胞の ATF4 発現も抑制されたが、その抑制レベルは HCC827 細胞より小さかった。osimertinib は、GCN2 及び eIF2 α のリン酸化レベルをほとんど変動させなかった。GCN2 阻害剤 GCN2iB は、L-asparaginase 添加時の両細胞の ATF4 発現誘導を阻害した。一方、EGFR 野生型のヒト肺がん NCI-H460 細胞に対しては、osimertinib は、histidinol、L-asparaginase による ATF4 の発現誘導を抑制しなかった。

2-1-2. ストレス下での EGFR 阻害剤の細胞増殖抑制および細胞死誘導

ヒト肺がん PC-9 細胞は、EGFR に exon 19 欠失の活性化変異を有する。osimertinib は、EGFR に活性化変異を有するヒト肺がん HCC827 細胞、NCI-H1975 細胞および PC9 細胞の細胞増殖を抑制した。histidinol は、osimertinib の細胞増殖阻害効果を増強した。EGFR 野生型のヒト肺がん NCI-H460 細胞の細胞増殖に対しては、osimertinib は効果を示さなかった。

osimertinib は、HCC827 細胞、NCI-H1975 細胞にアポトーシスを誘導した。histidinol、L-asparaginase は、HCC827 細胞に対する osimertinib のアポトーシス誘導を増強した。NCI-H1975 細胞に対しては、histidinol は osimertinib のアポトーシス誘導を軽度を増強したが、L-asparaginase は osimertinib のアポトーシス誘導を増強しなかった。

以上より、histidinol、L-asparaginase は、HCC827 細胞に対する osimertinib の効果を増強したが、NCI-H1975 細胞に対してはその増強効果は少なかった。

2-2. 活性化変異型 PI3K によるストレス応答の制御

2-2-1. PI3K 阻害剤による ATF4 抑制効果

EGFR に活性化変異を持つヒト肺がん細胞株のうち、HCC827 細胞の PI3K は野生型であるが、NCI-H1975 細胞は PI3Kp110 α に G118D の活性化変異を有する。

HCC827 細胞と NCI-H1975 細胞の培養に、L-asparaginase と PI3K α 阻害剤 alpelisib、または histidinol と alpelisib を添加して ATF4 の免疫蛍光染色を行ったところ、NCI-H1975 細胞では、alpelisib は L-asparaginase または histidinol による ATF4

の発現誘導を大きく低下させた。HCC827 細胞では、alpelisib は L-asparaginase による ATF4 の発現誘導を少し低下させたが、histidinol による ATF4 の発現誘導は変化させなかった。

HCC827 細胞と NCI-H1975 細胞の培養に、L-asparaginase と 3 種の PI3K α 阻害剤を添加して western blot により ATF4 の発現を検討したところ、免疫蛍光染色の結果と同様に、NCI-H1975 細胞の ATF4 発現が顕著に抑制され、HCC827 細胞の ATF4 発現は少し抑制された。この時、osimertinib の処理時の結果と同様に、GCN2 及び eIF2 α のリン酸化レベルの変動はわずかであった。

EGFR 野生型ヒト肺がん細胞株のうち、A549 細胞の PI3K は野生型であるが、NCI-H460 細胞は PI3Kp110 α に E545K の活性化変異を有する。A549 細胞と NCI-H460 細胞の培養に、histidinol と alpelisib を添加して western blot により ATF4 の発現を検討したところ、NCI-H460 細胞では、alpelisib は histidinol による ATF4 の発現誘導を大きく低下させたが、A549 細胞では、alpelisib は histidinol による ATF4 の発現誘導を変化させなかった。

EGFR の下流のシグナル経路下流の代表的な経路として、MAPK 経路および AKT 経路が存在するが、MEK 阻害剤 trametinib は、L-asparaginase による NCI-H1975 細胞の ATF4 の発現誘導を抑制しなかった。一方、AKT 阻害剤 MK2206 は L-asparaginase による NCI-H1975 細胞の ATF4 の発現誘導を抑制した。

2-2-2. *PIK3CA* ノックダウンによる ATF4 発現誘導の抑制

HCC827 細胞、NCI-H1975 細胞の培養に、*PIK3CA* siRNA を導入して PI3Kp110 α サブユニットをノックダウンすると、NCI-H460 細胞では、L-asparaginase、histidinol による ATF4 の発現誘導が大きく抑制された。一方、A549 細胞では、PI3Kp110 α サブユニットのノックダウンによる ATF4 の発現誘導抑制効果は軽度であった。また、PI3Kp110 α サブユニットのノックダウンは、GCN2 及び eIF2 α のリン酸化レベルを変化させなかった。これは、PI3K 阻害剤処理時の結果と一致していた。一方、PI3Kp110 β または PI3Kp110 δ サブユニットをノックダウンでは、ATF4 の発現は変化しなかった。

2-2-3. mTOR 阻害剤及び mTOR ノックダウンによる ATF4 発現誘導の抑制

histidinol 及び L-asparaginase 処理時に、複数の mTORC 阻害剤を共処理し免疫蛍光染色を行ったところ、NCI-H1975 細胞では、HCC827 細胞に比べて、ATF4 発現誘導が顕著に抑制された。同様に、L-asparaginase 処理時に mTOR 複合体構成因子である raptor、rictor のノックダウンを行ったところ、NCI-H1975 細胞では、HCC827 細胞に比べて、ATF4 発現誘導が顕著に抑制された。

2-2-4. *PIK3CA* ノックダウンによるタンパク質翻訳の抑制

NCI-H1975 細胞において、*PIK3CA* のノックダウンは、histidinol 及び L-asparaginase 処理により増加した *ATF4* mRNA の発現レベルを低下させた。しかし、

ATF4 のタンパク質発現量と比較して、発現低下は少なかった。また、NCI-H1975 細胞における *PIK3CA* のノックダウンは、HCC827 細胞と比較して、puromycin の取り込みを指標とした新規タンパク質合成能を顕著に減弱させた。さらに翻訳開始因子 eIF4A の阻害剤である silvestrol の処理により、HCC827 細胞、NCI-H1975 細胞の ATF4 発現誘導が抑制されたが、NCI-H1975 細胞では silvestrol のより低い濃度から ATF4 誘導抑制効果が認められた。

2-3. 活性化変異型 EGFR 及び活性化変異型 PI3K によるストレス応答の制御

2-3-1. EGFR 阻害剤及び PI3K 阻害剤の併用によるストレス下での ATF4 発現誘導の抑制

histidinol 処理条件下の osimertinib と alpelisib の併用による ATF4 誘導抑制効果を検討した結果、EGFR と PI3K に活性化変異を持つ NCI-H1975 細胞では、各単独処理と比較して、併用で顕著な ATF4 誘導抑制効果が認められた。一方、EGFR に活性化変異を持つが PI3K 野生型の HCC827 細胞では、併用による効果増強は認められなかった。histidinol に代えて、prolyl-tRNA synthetase を阻害してアミノ酸欠乏ストレスを誘導する halofuginone を用いた実験でも、NCI-H1975 細胞では、osimertinib と alpelisib の併用により同様の効果増強が得られた。NCI-H1975 細胞では、histidinol 処理条件下の osimertinib と pan-PI3K 阻害剤 copanlisib の併用時にも、各単剤処理時と比較して、顕著な ATF4 誘導抑制効果が認められた。

2-3-2. EGFR 阻害剤及び PI3K 阻害剤の併用によるストレス応答遺伝子の抑制

NCI-H1975 細胞を用いて、cDNA microarray による遺伝子発現解析を行った結果、通常培養条件と比較して、histidinol の 24 時間処理により 2 倍以上発現が変動した遺伝子が 125 個抽出された。この遺伝子群に対して、histidinol 処理時と histidinol、osimertinib、alpelisib の 3 剤併用時を比較したクラスター解析を行い、3 剤併用時に遺伝子の発現が減弱する Stress-EGFR/PI3Ki signature を同定した。このシグネチャーに関して、histidinol と osimertinib の 2 剤併用時、histidinol と alpelisib の 2 剤併用時加えて解析したところ、弱い発現抑制効果が認められた。また、バイオインフォマティクスツールを用いて Stress-EGFR/PI3Ki signature を解析した結果、この中にストレス関連遺伝子が含まれることが明らかとなった。またその上流因子として ATF4 が予測された。

2-3-3. EGFR 阻害剤及び PI3K 阻害剤の併用によるストレス応答関連タンパク質の発現抑制

Stress-EGFR/PI3K signature に含まれており、既知の ATF4 の下流因子である phosphoserine aminotransferase (PSAT) のタンパク質発現を western blot で検討したところ、遺伝子の発現傾向と一致して、osimertinib 及び alpelisib の併用処理によって顕著な発現低下がみられた。また、ストレスの有無に関わらず、osimertinib と

alpelisib の併用は、EGFR のリン酸化レベルを低下させた。

2-3-4. EGFR 阻害剤及び PI3K 阻害剤の併用によるストレス下の細胞増殖抑制と細胞死誘導

NCI-H1975 細胞の培養に histidinol を添加した条件で、osimertinib と alpelisib の併用は、osimertinib または alpelisib の単剤処理と比較して、顕著な細胞増殖阻害効果を示した。また、osimertinib と alpelisib の併用は、histidinol 添加条件下で、アポトーシス誘導を顕著に増強させた。

2-4. 考察・展望

「2-1」において、EGFR に活性化変異を有するヒト肺がん細胞で、osimertinib がストレス条件下の ATF4 発現誘導を抑制したことから、活性化変異型 EGFR はストレス条件下の ATF4 発現誘導の制御に関与していると考えられた。しかし GCN2 の活性化の指標である GCN2 のリン酸化および eIF2 α のリン酸化の変動はわずかであったため、GCN2 経路とは異なる経路で ATF4 が制御される可能性が考えられた。さらに、PI3K に活性化変異を有する NCI-H1975 細胞では、PI3K 野生型の HCC827 細胞と比較して、osimertinib による ATF4 発現誘導抑制効果及び細胞増殖抑制効果が弱かったことから、活性化変異型 PI3K が ATF4 発現誘導の制御に寄与している可能性が考えられた。

「2-2」において、活性化変異型 PI3K は、主に mTOR を介して、ATF4 の翻訳を制御している可能性が考えられた。特に、PI3Kp110 α サブユニットは、ATF4 の発現誘導に関与することが示された。また、NCI-H1975 細胞の ATF4 発現誘導の制御においては、MAPK 経路は関与しないと考えられた。

「2-3」において、NCI-H1975 細胞では、活性化変異型 EGFR に加えて、活性化変異型 PI3K も ATF4 発現誘導の制御及びストレス下の細胞生存に寄与することが明らかとなった。Stress-EGFR/PI3Ki signature には、*PSAT1*, *phosphoserine phosphatase*, *branched chain amino acid transaminase 1* など、肺がんの進行や悪性化に関与する複数のアミノ酸代謝関連遺伝子が含まれている。EGFR 阻害剤耐性細胞やゼノグラフトモデルにおいて、アミノ酸代謝を含む代謝の亢進が報告されており、EGFR 及び PI3K は、アミノ酸代謝を調節して腫瘍の適応応答に寄与している可能性が考えられた。

EGFR に変異を有する肺腺がんの約 10% で PI3K の活性化変異が認められている。さらに、EGFR と PI3K の共変異が、肺がんの悪性化や EGFR 阻害剤抵抗性に関連することが報告されている。本研究で、EGFR と PI3K の両者に活性化変異を有する NCI-H1975 細胞で、EGFR 阻害剤と PI3K 阻害剤の併用により、アミノ酸欠乏ストレス下の ATF4 の発現誘導を抑制し、細胞の生存と増殖を阻害できるということが示された。以上から、アミノ酸ストレスを標的とする EGFR 阻害剤及び PI3K 阻害剤の併用は、EGFR と PI3K の両者に活性化変異を有する肺がんに有効であると考えられる。

また、KRAS と PI3K の両者に活性化変異を有する非小細胞肺癌も存在する。「2-2」で、KRAS と PI3K の両者に活性化変異を有する NCI-H460 細胞では、KRAS 単独に変異を持つ A549 細胞と比較して、PI3K 阻害により ATF4 発現を顕著に抑制できることが示された。今後、KRAS と PI3K の両者に活性化変異を有する肺癌細胞を用いて、KRAS 阻害剤と PI3K 阻害剤の併用による細胞増殖抑制効果や ATF4 発現誘導に対する効果などを検討することが必要であると考えている。

本研究では、がん遺伝子産物による新たな ATF4 発現制御機構として、活性化変異型 EGFR と活性化変異型 PI3K による mTOR を介した翻訳制御を提唱した。また、活性化変異型 EGFR 及び活性化変異型 PI3K が、アミノ酸欠乏ストレスに対する適応応答の制御に寄与していることを示した。さらに、EGFR と PI3K の両者に活性化変異を有する肺癌細胞に対して、EGFR 阻害剤と PI3K 阻害剤の併用が有効であり、この併用効果にストレス応答が大きく関与していることを示した。本研究は、肺癌に対する新たな薬物療法の開発に基礎的なバックグラウンドを与えるものになると考えている。

論文審査結果の要旨

1. 審査概要および判定結果

本審査会では、最初に申請者が約 25 分間のプレゼンを行い、その後約 1 時間の質疑応答を行なった。最後に、申請者が退出して、審査委員による協議を行なった。

審査委員よりの、がん患者のアミノ酸欠乏はどういうことを想定しているのかという質問に対し、申請者は、がん微小環境の低栄養を想定している、と回答した。

審査委員よりの、なぜ、PI3K の研究を始めたのか、という質問に対し、申請者は、PI3K に活性化変異がある場合に、EGFR 阻害剤の効きが悪いのに着目した、と回答した。

審査委員よりの、この研究の新規性はどこにあるのか、という質問に対し、申請者は、EGFR と PI3K の両者に活性化変異をもつ肺癌に対しての EGFR 阻害剤と PI3K 阻害剤の併用の効果は、2021 年に初めて報告された。この併用効果をストレス応答の面から解析した研究はまだない。遺伝子解析の結果も新規である、と回答した。

審査委員よりの、EGFR のシグナルの下流に RAS と PI3K があり、EGFR を阻害すれば PI3K が阻害されると考えられるが、EGFR と PI3K を二重に阻害する必要はあるのか、という質問に対し、申請者は、NCI-H1975 細胞では、阻害剤の併用で細胞死が増強された。NCI-H1975 細胞に対しては、EGFR 阻害剤単独では細胞を殺す効果は不十分である、と回答した。

審査委員よりの、PI3K と EGFR の相互関係はどうなっているのか、という質問に対し、申請者は、PI3K に活性化変異が起こると、EGFR の活性を上昇させる。しかし、PI3K 依存的に EGFR の活性を制御する因子は同定できていない、と回答した。

審査委員よりの、HCC827 細胞と H1975 細胞で、PI3K の変異だけが違うようにプレゼンしているが、それ以外の変異は関係しないのか、という質問に対し、申請者は、driver oncogene に関しては、これ以外には違いはない、と回答した。

審査委員よりの、いろいろな阻害剤を用いているが、off-target の心配はないか、特異性はどのように担保するのか、という質問に対し、申請者は、EGFR の阻害と PI3K の阻害に関しては、knockdown 実験で同じ結果となることを確認している。また、複数の阻害剤を用いて効果を確認している、と回答した。

審査委員よりの、野生型 EGFR でも EGF の刺激によって ATF4 の発現誘導が起こるのか、という質問に対し、申請者は、PERK が活性化するという報告があるけれど、自分では検証していない、と回答した。

審査委員よりの、EGFR に変異があることで細胞内の compartment が変わるから ATF4 の発現誘導機構が変わるといえることがあるのではないかと、変異型 EGFR も endocytosis されるのではないかと、という質問に対し、申請者は、endocytosis や細胞内の compartment の変化については、まだ検討していない、と回答した。

審査委員よりの、アミノ酸欠乏では、autophagy も起こるが、どうなっているのか、という質問に対し、申請者は、この研究は、アミノ酸欠乏に対する初期のストレス応答を対象にしている。ATF4 の発現上昇の下流に autophagy があるが、それ以降の応答については解析していない、と回答した。

上記に加えて、審査委員より、EGFR の 2 種類の活性化変異での活性の違い、それぞれの EGFR 阻害剤の変異型 EGFR に対する効果、osimertinib の EGFR 野生型に対する効果などについても質問があったが、申請者はいずれの質問にも適切に回答した。

また、審査委員より、論文とプレゼンの構成などに対して、以下のようなアドバイスがあった。

聞いている人が興味を持てるように、研究対象に肺がんを選んだ理由、EGFR 阻害剤の効果、ISR に新規性があること、併用療法の利点と個別化治療の可能性など、自分の研究の立ち位置と重要性がわかるようなプレゼンが望ましい。また研究の目的と結論との対応が明確となるプレゼンを期待したい。

NCI-H1975 細胞に対する osimertinib と alpelisib の併用では、細胞死誘導のデータが出ているが、細胞増殖阻害のデータも出したほうがいい。

transcriptome の結果を出す時、どのような既存データに基づいて対象の遺伝子リストを制御する可能性の高い上流因子を絞り込んでいるのか、そのデータマイニングの自身を理解する必要がある。また、エンリッチメント解析で得られた上流因子候補をいく

つか表示して、その中で相対的な ATF4 の優位性を語るほうがいい。

本研究は、肺がん細胞におけるストレス応答と ATF4 の発現制御における、活性化変異型 EGFR と活性化変異型 PI3K の作用について、新たな知見を提供した。また、EGFR と PI3K の両者に活性化変異を有する肺がん細胞株に対する阻害剤の併用効果を、ストレス応答の面から詳細に解析し、将来の薬物療法の開発に貢献する可能性を示した。

申請者は、審査委員よりの質問に対して、丁寧かつ的確に答えており、本研究及びその関連領域に対する知識と理解は、ほぼ満足できるものであった。今後は、薬学領域全般について研究を続け、さらに活躍されることを期待したい。

博士学位論文公聴会において、EGFR 変異体や PI3K 変異体を強制発現させた細胞の表現型、EGFR シグナルとして STAT ファミリーの関与、ATF4 発現上昇のがん細胞における生物学的意義、ATF4 の核移行についてのデータ解釈、などの質問があった。また、EGFR 阻害剤と PI3K 阻害剤の併用について、肺腺がん以外のがん種への有効性、正常細胞に対する副作用、耐性発現の有無、などについて質問があった。いずれの質問に対しても、申請者の応答は概ね妥当であった。

以上より、申請者は博士（薬学）の学位に十分値するものと評価された。

論文目録

Takahashi M, Okamoto Y, Kato Y, Shirahama H, Tsukahara S, Sugimoto Y, Tomida A. Activating mutations in EGFR and PI3K promote ATF4 induction for NSCLC cell survival during amino acid deprivation. *Heliyon* 9(4), e14799, 2023.