

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：肺がんの分子診断法および分子治療法の開発
2. 研究開発代表者： 間野博行（国立大学法人東京大学）
3. 研究開発の成果

肺がんは我が国及び欧米先進国におけるがん死数の第一位を占める予後不良の疾患であり、旧来の抗がん剤による化学療法で延命効果が証明された治療剤は少ない。申請者らは独自のがん遺伝子スクリーニング法を開発し、それを用いて肺腺がん患者外科切除検体から新規がん遺伝子 *EML4-ALK* を発見することに成功した。現在多くの製薬会社が ALK 阻害剤開発に乗り出しているが、中でも 1 社は既に独自の ALK 阻害剤（クリゾチニブ）による臨床試験を行い、その特効薬とも言える治療効果を証明することに成功した。以上より我が国の発見によって今後世界中の何万人・何十万人もの肺がん患者の生命予後が大きく変わろうとしているのである。本研究計画で我々は、実際の治療の際に発生する ALK 阻害剤耐性の分子メカニズムを解明すると共に、*EML4-ALK* の細胞内下流シグナルを明らかにし、これら下流分子及びマイクロ RNA のがん臨床検体における動態を明らかにすることを目指す。その結果、ALK 肺がんにおける ALK 阻害剤耐性機構として、阻害剤耐性期の腫瘍解析により、ALK キナーゼドメイン内の二次変異として L1171T 変異を同定した。また阻害剤耐性となった肺がん症例が、感受性を維持している症例に比べて BIM 遺伝子の germ-line 多型を有しているか検討した。またマウスに正着した Patient-derived xenograft の包括的な遺伝子発現解析を次世代シーケンサにて行い、リガンド・受容体の組合せからなるヒト・マウス（がん・間質細胞）の interactome を数値化したデータを得た。上皮型を特徴づけるがん・間質相互作用の候補遺伝子を抽出する作業まで終了し、免疫染色による組織学的解析、ノックダウン実験による細胞生物学的な解析による検証を進めている。さらに、A549 肺腺がん細胞を用いて、昨年度までに同定した機能未知のノンコーディング RNA による遺伝子発現への影響を RNA-seq により網羅的に検討した。ノンコーディング RNA の発現を抑制するために、ノックダウン効率・標的特異性の面で広く受け入れられている antisense LNA gapmer を用いた。得られたデータを用いて Gene Set Enrichment Analysis (GSEA) を行った結果、このノンコーディング RNA の発現を抑制すると、TGF- β による標的遺伝子群の発現調節機構が広く損なわれることが分かった。以上のことからこのノンコーディング RNA が一部の標的遺伝子に限られた発現制御機能のみを有するのではなく、より広く TGF- β シグナル伝達機構全般の調節に関わる、重要な役割を有することが示唆された。今年度設定したマイルストーンを達成できたと考えられる。

4. その他