

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名： 「分子プロファイリングによる新規標的の同定を通じた難治がん治療法開発」  
(分子標的薬の感受性・耐性を規定する新たな分子機構の解明)

2. 研究開発代表者： 矢野 聖二 (国立大学法人金沢大学・がん進展制御研究所)

### 3. 研究開発の成果

(1) EGFR 変異肺がんにおける EGFR チロシンキナーゼ阻害薬 (EGFR-TKI) 耐性の分子機構を明らかにするために、EGFR 変異肺がん患者の EGFR-TKI 治療前後のホルマリン固定パラフィン包埋腫瘍組織や血液サンプル (血清および血漿) を用いた解析を行い、下記の結果を得た。

1) 腫瘍組織検体を用いた免疫染色にて、EGFR-TKI 自然耐性症例 (45 例) の約 20% に、獲得耐性の症例 (23 例) の約 60% に肝細胞増殖因子 (HGF) が過剰発現していることを明らかにした。既に集積している血清・血漿に加え、新たに EGFR 変異肺がんの EGFR-TKI 治療前後の血清および血漿検体を 100 症例分集積し、EGFR-TKI 治療前より獲得耐性後に血清中 HGF 濃度が上昇している症例があることを明らかにした。HGF は EGFR 変異肺がん細胞の EGFR-TKI 耐性を惹起することを既に報告しており、HGF が臨床的にも重要な EGFR 変異肺がんにおける EGFR-TKI 耐性因子であることが明らかとなった。

2) 既に集積していたホルマリン固定パラフィン包埋腫瘍組織を用いた免疫染色による解析で、細胞膜  $\beta$  カテニン発現 (非活性型  $\beta$  カテニン) が EGFR-TKI 耐性因子として、がん幹細胞化に係る RNA ヘリカーゼ蛋白質 (以下、RNA ヘリカーゼ A) を EGFR-TKI 抵抗性因子として同定した。

3) 肺がん患者の凍結組織検体及び末梢血検体から抽出する DNA のシーケンスや、肺がん患者の血清・血漿のプロテオーム解析等による網羅的スクリーニングなどを行い、がん幹細胞化に関する RNA ヘリカーゼ蛋白質 (セリンプロテアーゼ A) が EGFR-TKI 耐性関連因子であると同定した。

4) 既知の因子であるが KRAS 変異が EGFR-TKI 耐性因子であることを確認した。さらに、KRAS 肺がん細胞株が分子標的薬に耐性を示すメカニズムを解析し、MEK 阻害時にフィードバック機構により受容体型チロシンキナーゼが活性化され、活性化された受容体が MAPK シグナルを再活性化するために分子標的薬耐性を示すことを明らかにし、KRAS 変異肺がんは上皮間葉移行 (EMT) の状態に応じて治療標的を選択 (上皮型には MEK 阻害薬と ERBB3 阻害薬の併用、間葉型には MEK 阻害薬と FGFR1 阻害薬の併用) することで治療できる可能性を示した。

(2) EML4-ALK 肺がんにおける ALK 阻害薬の耐性因子として EMT を同定するとともに、間葉型の形質を上皮型の形質に再移行させる薬剤の処理により、ALK 阻害薬に対する感受性を回復させ得ることを明らかにした。

(3) EGFR 変異肺がんにおいて BIM 遺伝子多型が起因する EGFR-TKI 耐性を、ヒストン脱アセチル化阻害薬 (HDAC 阻害薬) を併用することで解除しうることを明らかにした。この基礎研究成果は、EGFR-TKI と HDAC 阻害薬併用療法の安全性を確認する医師主導治験を開始する理論的基盤となった。また、ALK 阻害薬として ALK 融合遺伝子陽性肺がんにも認可されているアレクチニブが、RET 阻害活性を有することを明らかにし、RET 融合遺伝子陽性肺がんにおけるアレクチニブの有効性を評価する医師主導治験を開始する理論的基盤となった。

### 4. その他

4件の特許出願を行った。