

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：「チロシンキナーゼ阻害剤による有効ながん治療の実用化に関する研究」
(肺がんにおける上皮成長因子受容体チロシンキナーゼ阻害薬耐性機構の解明)
2. 研究開発代表者：国立大学法人九州大学 大学院医学研究院 中西洋一
3. 研究開発の成果

平成 27 年度までに全エクソームシーケンスが終了した耐性獲得後検体 15 症例について解析を行った。各症例について遺伝子変異のスペクトラムを検討したところ、C:G から T:A への遺伝子変異の割合が高く、全症例でほぼ同様であった。C:G から G:C への遺伝子変異の割合が比較的多い症例も 2 例認められた。また耐性獲得後症例 15 例のうち、4 例について T790M を認めた。また 2 例について MET 遺伝子の増幅を認めた。さらにこれまでに報告が無い耐性関連候補遺伝子を 2 つ同定した。

また、in situ PLA 法を用いた活性化 EGFR の新たな検出法について検討を行った。細胞株、臨床検体を用いて in situ PLA 法によって EGFR の活性化を検出できることを明らかにした。

EGFR-TKI 治療前後のホルマリン固定パラフィン包埋検体を用いて、デジタル PCR による遺伝子変異の高感度検出ならびに次世代シーケンサーを用いたマルチプレックス遺伝子変異検出を行った。耐性分子として見出された遺伝子異常は、EGFR の二次的変異である T790M が約半数を占め、その他の耐性要因として MET 遺伝子増幅が見出された。これまでの結果から、第 1 世代および第 2 世代 EGFR-TKI の耐性機序として T790M に加えて MET、ERBB2 の遺伝子増幅が見出された。

第 3 世代 EGFR-TKI の耐性変異として見出された EGFR C797S の内因性耐性化分子としての可能性を検討するため、デジタル PCR 法による高感度検出法を構築した。同手法を用いて非小細胞肺がんのホルマリン固定パラフィン包埋検体による遺伝子変異の検出を試みたが、C797S 遺伝子変異陽性の検体は見いだされなかった。これまでの結果から、EGFR-TKI の内因性耐性要因としては MET 遺伝子増幅が見出された。

EGFR 経路に存在する重要遺伝子に関する遺伝子異常の解析及び分子病理学的研究として、耐性に関連する二次性獲得変異などのデータを電算化し、1 つのデータベースとして情報を集約した。その結果、多くの再生検組織では診断時の生検組織と比較し、腫瘍細胞量に乏しく線維性結合織の割合が上昇していることがわかった。この結果は耐性遺伝子解析を行う上で考慮すべき事象であると結論付けられた。

EGFR 遺伝子変異には EGFR-TKI に効果を示さないベースライン耐性を示す変異の存在が知られている。そのうち変異頻度の乏しいマイナー変異についてデータベースにまとめ、その頻度およびベースライン耐性を含むデータベースを構築した。その結果、平成 25 年度に見出した NRG1 融合遺伝子は EGFR 変異や他のドライバー変異と相互排他的な関係にあり、EGFR-TKI に効果を示さないベースライン耐性であることが判明した。