

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」
(ALK-TKI 感受性・耐性を規定する遺伝子変異の同定)

2. 研究開発代表者： 山下義博 (国立大学法人東京大学大学院医学系研究科)

3. 研究開発の成果

チロシンキナーゼ阻害薬(TKI)はがん分子標的治療におけるキードラッグである。しかし、現状ではTKIに対する自然耐性、獲得耐性が臨床上の大きな課題となっている。そこで我々はEML4-ALK陽性肺がんのALK TKI耐性獲得機構について検討を行った。

EML4-ALKは我々が2007年に報告した肺がんの原因遺伝子であり、ヒト2番染色体短腕内逆位の結果、EML4遺伝子とALK遺伝子が融合することにより生じる。ALKは受容体型チロシンキナーゼをコードするが、EML4と融合することで恒常的に活性化された細胞内チロシンキナーゼが作られる。最初のALK TKIであるクリゾチニブが2012年に厚生労働省で承認され広く用いられているが、2015年には第二世代ALK TKIであるアレクチニブも承認され臨床で使用されている。

本研究計画の当初は、クリゾチニブに耐性となった症例についてその感受性期検体とのペアでゲノム解析し、クリゾチニブ耐性をもたらす二次変異の同定を試みた。また後半ではアレクチニブ耐性症例も出現してきたため、それらについても症例の収集を試み解析を行った。

山下らが「ALK肺がん研究会」活動によって収集したコホート検体約1000例の中から、ALK阻害剤クリゾチニブの感受性期と耐性期のペア検体が得られたものが3セットあった。これらについて次世代シーケンサーにより十分な深度(x100-200)で全エクソン配列解析を行った結果、1例については薬剤耐性の原因となるEML4-ALK内二次変異C1156Y、L1196Mを見つけることに成功した。特にL1196M変異は、活性型EGFR陽性肺がんがゲフィチニブに耐性を獲得する変異T790Mと、キナーゼの立体構造上同じ場所(ゲートキーパー部位)に位置し、TKI耐性が同じ箇所の変異を利用して生じる事を示唆しており興味深い。またこのL1196M変異の発見により、ゲートキーパー変異があっても有効な、アレクチニブなど第二世代のALK TKI開発につながった。

さらに我々は西日本がん研究機構をはじめとする治験グループと共同で新たなALK阻害剤耐性期検体の収集に努め、ペア正常検体8例を含む26検体を収集し、それらについて全エクソン配列解析を行った。またRNAが得られる10例について網羅的RNA配列解析も行った。その結果、EML4-ALK内二次変異L1171T、G1269AなどのALK阻害剤耐性変異が存在するのを見いだした。その他EML4-ALK以外の耐性期変異については各遺伝子の完全長cDNAを作成して、耐性原因であるかの機能スクリーニングを行っている。