

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」（治療標的となる新規融合型キナーゼの同定）
2. 研究開発代表者：公益財団法人がん研究会がん研究所 分子標的病理プロジェクト
竹内賢吾
3. 研究開発の成果

本研究では、がんにおいて、新しいチロシンキナーゼ（TK）融合遺伝子を同定することを目的とした。TK 異常はがんの原因かつ分子標的となり得るので、その発見は革新的な医薬品の研究開発や患者に負担の少ない早期診断に資する研究開発へとつながる。

対象とした癌種は肺癌（1,500 例）、婦人科癌（1,500 例）、乳癌（400 例）、大腸癌（1,500 例）で、後半、膀胱癌、頭頸部癌もくわえた。これらの症例総てに詳細な臨床データや病理診断が完備していることは本コホートの特徴である。具体的には、がん研究会が保有するホルマリン固定パラフィン包埋検体より組織アレイを癌種ごとに作成し、各 TK に対する FISH を施行した。この first step である FISH スクリーニングで選択された症例の凍結検体を用い RACE 法などの分子生物学的手法により融合相手の同定が行われた（本探索システムの second step）。しかしながら、プロジェクトの拡充につれスクリーニング陽性症例が増えてくると、conventional な分子生物学的方法では融合遺伝子の同定に到らないものが見られてきた。この場合、FISH 法による偽陽性だったのか、それとも分子生物学的な技術上の理由で融合相手の同定に至らないのかが不明となる。すなわち、どの時点で当該候補症例の second step を打ち切るべきかが判断できず、second step が全探索システムのボトルネックになってきた。そこで、second step に次世代シーケンサーを導入し、候補症例における融合遺伝子の有無に決着をつけ、システム全体の効率を高めることを試みた。

なお、研究当初に 200 字程度の記載を求められた 5 年間に期待される研究成果は、「3 件の新規 TK 融合遺伝子の同定。その臨床病理学的検討のまとめと汎用的診断法の開発。既存の TK 阻害剤による阻害実験。リード化合物取得のための基礎データ提供」であった。

研究期間中に、肺癌（71,663 件）、婦人科癌（70,283 件）、乳癌（17,448 件）、大腸癌（108,324 件）、膀胱癌（5,775 件）、頭頸部癌（9,092 件）の FISH スクリーニングを行った。前 4 者に関してはスクリーニング予定数をクリアした。途中で加えた後 2 者に関してはとくに目標は定めなかった。我々の発見時に新規であった融合遺伝子として、婦人科癌（1 件）、大腸癌（10 件）、膀胱癌（1 件）、頭頸部癌（2 件）を同定した。このうち 6 件につき機能解析を行った。また、新規性のある 8 件について特許出願した（まとめて出願したものもあるので、特許出願件数とは一致しない）。次世代シーケンサーの導入に関しては、DNA ベース、RNA ベース、種々の手法を試したが、RNA ベースのものを最終的に採用した。独自開発したパイプラインにより、各がん種の未解決の FISH 陽性例において有望な計 40 症例に対して検索を行い、そのすべてで機能的な融合遺伝子は存在しないとの結論を得た。