

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：p53 経路が規定する難治がんの分子標的と治療抵抗性の解析
2. 研究開発代表者：江成 政人（国立研究開発法人国立がん研究センター研究所難治進行がん研究分野）
3. 研究開発の成果

本研究では、ヒト臨床組織から ALK 融合陽性肺腺がん細胞株の樹立を試み、ALK 阻害剤や p53 活性化剤の薬剤抵抗性とがん幹細胞様形質との関連性を明らかにするとともに、それら薬剤に対する抵抗性に関与する因子を網羅的な解析により同定すること、がん随伴線維芽細胞の有無によるそれら薬剤抵抗性への影響について調べることを目的とした。一方、膵内分泌腫瘍患者の治療成績と PHLDA3 遺伝子異常との関連を調べ、PHLDA3 遺伝子異常の有無による膵内分泌腫瘍の診断法開発の土台を築くとともに、膵内分泌腫瘍の疾患モデルを用いて、膵内分泌腫瘍発生のメカニズムを解析し、新規の治療標的分子を同定することを目的とした。それら研究開発の成果を以下に示す。

まず ALK 阻害剤抵抗性メカニズム解明に関わるアッセイ系の開発として、ALK 融合陽性肺腺がん患者由来のがん組織や胸水の 37 症例から細胞株の樹立を試み ALK 融合陽性でかつ p53 遺伝子に変異を持たない細胞株の樹立を試みた。その結果、臨床検体 37 症例のうち、7 例が ALK 融合陽性であり、その内 1 症例の ALK 融合陽性でありかつ p53 遺伝子に変異を持たない細胞株の樹立に成功した。その樹立した細胞株を用いて p53 活性化剤による ALK 阻害剤抵抗性への効果を調べたところ、p53 活性化剤によって顕著に ALK 阻害剤耐性細胞の出現が減弱した。また、ALK 阻害剤と p53 活性化剤の薬剤除去による再増殖実験を行ったところ、p53 活性化剤を添加したほうが有意に再増殖率の低下を示した。また ALK 阻害剤抵抗性のメカニズムを解明するために、ALK 阻害剤 (Crizotinib、Alectinib、TAE-684) に対して抵抗性となる細胞株をそれぞれ樹立した。現在それら細胞株から RNA を抽出し、遺伝子発現解析を行っている途中である。

一方、PHLDA3 など機能未知の新規 p53 標的遺伝子の解析として、まず PHLDA3 遺伝子を欠損した膵内分泌腫瘍疾患モデルマウスの作製を試みた。その結果、PHLDA3 遺伝子を欠損したマウスでは 10 ヶ月ほどで悪性度の高い膵内分泌腫瘍を発症することがわかり膵内分泌腫瘍疾患モデルマウスの作製に成功した。

膵内分泌腫瘍患者における PHLDA3 の遺伝子異常を解析するために、新たな膵内分泌腫瘍の症例を 38 症例収集し、ゲノム異常の有無を解析した。その結果、PHLDA3 遺伝子が、がん抑制遺伝子であること、がん患者の予後と PHLDA3 遺伝子の異常が関わること、PHLDA3 遺伝子の異常の有無で治療薬の選択が出来ることの詳細な解析を進めた。