

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：クリニカルシーケンスによる肺腺がんの治療標的・抵抗性克服分子の同定に関する研究

2. 研究開発代表者：氏名 河野隆志

(国立研究開発法人国立がん研究センター 研究所 ゲノム生物学研究分野 分野長)

3. 研究開発の成果

本研究は、クリニカルシーケンス解析を基盤とし、申請者らが築き上げた研究体制・微小試料に対するゲノム解析技術、さらに患者試料の先駆的培養技術を最大限に活用することで、現存抗がん剤治療では効果の見込めない進行肺がんの治療標的分子および治療抵抗性克服分子を同定し、新規治療開発に繋げることを目的としている。その目的達成のため、本研究は以下の3つの項目からなる。すなわち、がん遺伝子変異陰性 (Pan-negative) 例の解析、EGFR 阻害薬及び RET 阻害薬治療例の解析、研究資材としての患者がん試料の培養である。

1. **Pan-negative** 例については、ゲノム解析を行い、**MET** キナーゼの活性化をもたらす **exon skipping** が全肺腺がんの3%に存在するドライバー変異であることを明らかにした。**RT-PCR** 法による陽性例診断法を確立し、**MET** 阻害剤の企業治験に向けた **SCRUM-Japan** 機構での全国遺伝子スクリーニングのため、国内臨床検査企業に技術移管を行った (マイルストーン 7,8 終了)。

組織学的に浸潤性粘液腺がんの特徴を有する症例の一部に **NRG1**, **ERBB4**, **BRAF** の遺伝子融合が存在することを明らかにした (マイルストーン 2, 7 終了)。 **NRG1** 遺伝子融合は **HER2/HER3** タンパク質を介したシグナル伝達を介して、がん化に寄与していることが見出され、**in vitro**、**in vivo** で **HER** タンパク質阻害薬であるラパチニブ、アファチニブが治療に有効である等のデータを得た。金沢大学後藤典子教授との共同研究により、**NRG1** 融合遺伝子産物は **IGF2** の発現を亢進させることにより、がん細胞の幹細胞様形質を増強することを明らかにし、シグナル経路に関連する分子が治療標的となることを明らかにした (マイルストーン 8 終了)。

2. **EGFR** 阻害薬治療例については、**EGFR** 阻害薬で治療された全 589 例からがん組織が利用できる術後再発症例 124 例を選出した (マイルストーン 1 終了)。奏効期間 2 年以上を **long responder** と暫定的に定義し、**long responder** (n=20) に着目しながら、それ以外の症例 (n=104) と比較して検証を行うこととした。凍結組織またはホルマリン固定組織から **DNA**, **RNA** を抽出し、ゲノム解析を行った (マイルストーン 2, 7 終了)。具体的には、50 がん関連遺伝子の変異解析、全エクソームシーケンスの結果を、がん関連遺伝子変異や全遺伝子の **mutation burden**、**signature** などに注目しながら関連解析を行っている (マイルストーン 8 着手)。 **mRNA** および **miRNA** 発現においても長期奏効例に特徴的な発現プロファイルについて解析に着手している (マイルストーン 8 着手)。

RET 阻害薬治療例については、治療抵抗性試料を収集するためのプロトコルを作成し、センター内の **IRB** 承認を得た (マイルストーン 4 達成)。また、1 例目の獲得耐性例の試料を得て、ゲノム解析に着手した (マイルストーン 6,7 着手)。引き続き得られる予定である **RET** 阻害剤治療後の症例の試料・診療情報を得て、耐性獲得に関与する遺伝子変化の探索を継続する (マイルストーン 6, 7 着手)。

3. 患者試料培養については、肺がん試料、手術摘出標本、胸水試料の培養を開始し、肺がん患者由来細胞の効果的な **in vitro** 培養法の開発を行った (マイルストーン 3 着手)。現在、胸水検体より 2015 年 10 例樹立、手術検体 9 例中 4 例樹立に成功した。その中には、希少な **RET** 融合陽性肺がんも含まれている。