

総括研究報告書

1. 研究開発課題名： Liquid Biopsy による分子標的薬の治療感受性・抵抗性の予測および新規獲得耐性機序の解明
2. 研究開発代表者： 西尾 和人（近畿大学 医学部）
3. 研究開発の成果

臨床で用いられる分子標的薬の感受性・抵抗性に関わる分子特性が明らかになるにつれ、適切な治療薬の選択を可能にするバイオマーカー診断技術の確立が喫緊の重要課題となっている。本研究の目的は、liquid biopsyによる遺伝子診断技術、すなわち、患者の病態により検体採取が左右されない「非侵襲的なバイオマーカー」診断技術を確立し、分子標的薬の治療感受性・抵抗性の予測ならびに新規獲得耐性機序の解明にこれらの技術を臨床応用することである。本研究では、臨床施設と連携し、liquid biopsyによる遺伝子診断、すなわちliquid sequencingを実施する。第一の目標は、血漿・血清検体からのEGFRチロシンキナーゼ阻害剤の二次的耐性変異であるT790M検出による耐性モニタリングであり、検出系としてデジタル PCRおよび次世代シーケンサーを用いる。第二の目標は、liquid biopsyによるALK, RET, ROS1等の融合遺伝子の検出とチロシンキナーゼ阻害剤に対する新規耐性機序の解明である。

平成27年度は、倫理委員会での承認を受けた研究計画書に基づき、EGFRチロシンキナーゼ阻害剤に耐性となった症例の血液検体の集積、測定、解析を行った。がん研有明病院と共同で、高感度検出法であるデジタルPCRとマルチプレックス測定に利のある次世代シーケンサーによるEGFRチロシンキナーゼ阻害剤耐性後の血漿検体からのEGFR遺伝子変異検出の検討を行い、両検出手法間で90%以上の高い一致率を得た。九州大学、久留米大学と共同で、EGFRチロシンキナーゼ阻害剤耐性後の腫瘍組織と血漿検体を用いて、デジタルPCRによるEGFR遺伝子変異の検出を行い、腫瘍組織検体との一致率から、血漿検体におけるEGFR遺伝子変異検出の有用性を示した。また、東京医科大学と共同で、約150例の腫瘍組織検体と血清検体のペア解析を実施し、早期の肺癌において血中に検出される遺伝子変異の有無と腫瘍体積が関連することを明らかにした。これらの結果に基づき、九州大学を中心として、EGFRチロシンキナーゼ阻害剤投与症例を対象として、投与前、投与後12週ごとに増悪まで定期的に血漿検体を採取し、liquid biopsyの有用性を検討する前向きの研究計画を開始し、87例の登録を得た。ALK, RET, ROS1融合遺伝子陽性肺癌の分子標的薬に対する耐性化機序の解明に関わる研究として、血中のALK二次耐性変異の検出系構築を進めるとともに、新たな耐性機序探索として、がん研有明病院において耐性症例検体からの初代培養細胞株樹立を実施し、ゲノム解析による耐性化変異の同定を行った。