

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：網羅的ドライバー遺伝子変異検索に基づく耐性 GIST の治療薬開発
2. 研究開発代表者： 西田 俊朗（国立研究開発法人国立がん研究センター東病院）
3. 研究開発の成果

【目的】本研究では、希少癌である GIST（消化管間質性腫瘍）において、分子生物学的プロファイリングに基づく治療薬開発を行うことを目的とした。具体的には、現在承認されているイマチニブ、スニチニブ、レゴラフェニブ何れにも抵抗性で、現在標準治療薬が無いと考えられている転移性又は根治切除不能な *KIT*・*PDGFRA* 遺伝子変異を持たない GIST、則、「Wild type GIST」のうち、*NF-1*、*BRAF*、*HRAS*、*NRAS* 遺伝子に異常を有する患者を対象に、MEK1&2 阻害剤の抗腫瘍効果と安全性を評価することが目的である。

【最終結果】上記を対象とした MEK1&2 阻害剤の第 II 相臨床試験を医師主導治験で行う予定で前臨床を行い、研究計画案の立案を立てた。しかし、企業より提供予定であった MEK1&2 阻害剤複数候補が毒性等にて開発中止等が発生、開発年度内に医師主導治験の実施と完了が困難となり、本研究費での医師主導治験の実施は中止することに至った。

### 【研究成果】

- ①. フォンレックリングハウゼン病タイプ I（Neurofibromatosis type I: NF1）に合併する GIST（NF1-GIST）の疫学調査と *NF1* 遺伝子に異常を持つ腫瘍への MEK 阻害剤の有用性を、細胞株を用い検討した。その結果、i. NF1-GIST は *KIT* や *PDGFRA* 遺伝子変異を持たず、NF1-GIST に対し標準治療薬イマチニブは治療効果を持たない。ii. NF1 患者は一般時に比し約 200 倍 GIST を発生しやすく、生涯罹患確率は約 7% と推定された。また、全 GIST に占める NF1-GIST の割合は、本邦とフランスでの疫学調査結果から、1.1~1.4% と推計された。iii. NF1-GIST では *KIT* 下流の RAS-MEK 系の活性化が認められ、*NF1*、*RAS*、*BRAF* に変異がある腫瘍に関して、MEK1&2 阻害剤は *in vitro* で細胞増殖を抑制した。
- ②. 関連・協力施設で進行再発リスクの高い GIST と診断された 478 例の中央病理診断と *KIT* 並びに *PDGFRA* 遺伝子解析を行った。その結果、中央判定で GIST 以外（*KIT*・*DOG1* 陰性、*KIT*・*PDGFRA* 遺伝子変異なし）を 3.3% に認めた。*KIT* 遺伝子変異 78%、*PDGFRA* 遺伝子変異 3%、Wild type 5.4%、遺伝子解析不能例を 4% に認めた。その結果、本研究の対象となる進行再発 wild type GIST の頻度は約 5% と従来の報告の 3~2 分の 1 に成ることが予想された。
- ③. 診断薬メーカーにより精度保証されたマルチプレックスがんゲノム診断キットを用いた GIST ドライバー遺伝子変異検索の実行可能性を検証した。ホルマリン固定生検標本からゲノム DNA を抽出し、Ion AmpliSeq Cancer Hotspot Panel あるいは OncoPrint Cancer Research Panel で米国 CLIA 規準をみたす検査室で実施した。実地診療で得られる組織余剰検体からも安定した遺伝子解析が実施できることが示され、臨床試験においてマルチプレックスがんゲノム診断キットとして有用である可能性が示された。
- ④. GIST 細胞株を用いて GIST 細胞が薬剤耐性に至る分子進化過程を解明した。具体的には、GIST-T1 細胞株にイマチニブを添加、IC<sub>50</sub> 値が 100 倍を示す耐性株（二次遺伝子変異のあるものと無いもの両者を複数）作成しエキソーム解析を行い、イマチニブ 2 次耐性に関与する遺伝子変異 19 種類を同定した。

4. その他 特記事項なし