

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名： BIM 遺伝子多型陽性癌における HDAC 阻害薬の耐性克服効果を最適化する薬力学的効果の指標を探索する研究
2. 研究開発代表者： 矢野聖二（金沢大学がん進展制御研究所）
3. 研究開発の成果
  - 1) 活性型 BIM 測定系の確立と臨床検体の測定
    - (1) HDAC 阻害薬の薬力学的効果の指標候補分子の測定系として、BIM 多型陽性肺癌細胞株および BIM 多型陽性健常人の PBMC を用い
      - i) Real-time RT-PCR 法による BIM Exon4/Exon3 比
      - ii) Western blot 法による活性型 BIM 蛋白定量の測定系を確立した。
    - (2) BIM 多型陽性健常人の PBMC を、ポリノスタット存在下で培養することにより BIM Exon4/Exon3 比および活性型 BIM 蛋白発現が上昇することを見出した。BIM Exon4/Exon3 比および活性型 BIM 蛋白発現が、薬力学的効果の指標として妥当であることを再確認した。
    - (3) 液体クロマトグラフィー質量分析法によるポリノスタット濃度およびゲフィチニブ濃度の測定系を確立した。
    - (4) 医師主導治験 (VICTORY-J) においてポリノスタット+ゲフィチニブ治療を受けた患者の血液検体 (9 症例分) を収集し凍結保存した。
    - (5) 上記 9 症例のうち、6 症例のポリノスタット (血清) およびゲフィチニブ (血漿) 濃度の測定を実施し、レベル 1 (ポリノスタット 100mg/日) の治療を受けた症例よりもレベル 2 (ポリノスタット 200mg/日) の治療を受けた症例で血清中ポリノスタット濃度が高いことを明らかにした。
  - 2) 他癌腫への展開
    - (1) 既存の ALK 肺癌細胞株には BIM 多型陽性の株はなかった。
    - (2) ALK 肺癌患者の検体から ALK 肺癌株を樹立し、新規 BIM 多型陽性 ALK 肺癌株を 1 株得た。さらに、この株から ALK 阻害薬 (クリゾチニブ) 耐性株を樹立したが、HDAC 阻害薬の併用による感受性回復は得られなかった。
    - (3) ALK 肺癌株、ROS1 肺癌株、RET 肺癌株では、分子標的薬によるアポトーシスは BIM 以外の因子に依存していることが示唆された。
  - 3) HDAC 阻害薬の薬力学的効果の新しい指標の探索
    - (1) 新規指標候補として、免疫染色による活性型あるいは不活性型の BIM 検出が可能な特異的抗体の作成に取り組み、候補抗体を得たが BIM 特異的染色は得られなかった。
    - (2) アポトーシス活性 (Caspase3/7 活性) を生体で検出できる FRET バイオセンサーの作成を完了した。次に、FRET バイオセンサーを PC-9 株および BIM 多型陽性 PC-9 株に導入し、ヌードマウスの皮下移植モデルで FRET が観察できることを確認した。さらに、Imaging Window 法でポリノスタット+ゲフィチニブの反復投与後にも同一部位・同一細胞の FRET を観察できるシステムを確立した。
4. その他  
特記事項なし。