

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：肺がんにおける薬物排出トランスポーターの分子基盤研究によるがん幹細胞の性状解析と分子標的治療薬耐性についての研究
2. 研究開発代表者： 片山 量平（公益財団法人がん研究会 がん化学療法センター 基礎研究部）
3. 研究開発の成果

本研究では、薬物排出トランスポーターとがん分子標的薬耐性、がん幹細胞性についての研究を、がん培養細胞株、肺がん臨床検体由来の組織および体腔液検体とそれらから樹立した細胞株を用いて解析し、以下の成果等を得ました。

*ALK* 融合遺伝子を持つ肺がん（*ALK* 陽性肺がん）は非小細胞肺がんの患者さん 100 人の内 3~5 人程度に見つかるといわれています（日本人で推定 2000 症例/年）。*ALK* 融合遺伝子とは、受容体型チロシンキナーゼをコードする *ALK* 遺伝子と他の遺伝子が融合してできた異常ながん遺伝子であり、*ALK* 融合遺伝子からできた *ALK* 融合タンパク質では、恒常的な *ALK* チロシンキナーゼの活性化により細胞増殖シグナルが出続け、がん細胞が増殖します。この *ALK* 陽性肺がんに対しては、異常活性化した *ALK* のチロシンキナーゼ活性を阻害できる *ALK* チロシンキナーゼ阻害薬（*ALK* 阻害薬）が有効であることが明らかとなっており、現在では複数の *ALK* 阻害薬が臨床応用されています。しかし一方で、多くの症例で数年以内に薬剤耐性を持ったがん細胞が出現し、再発してしまうことが問題となっていました。

本研究の結果、我々は、*ALK* 陽性肺がんに対する第 2 世代 *ALK* 阻害薬セリチニブ（米国・欧州で承認されており、本邦では 2016 年 3 月末に承認）に対する耐性を引き起こす新たな原因の 1 つとして薬物排出トランスポーターの 1 つである P 糖たんぱく質が過剰発現することで腫瘍細胞からセリチニブが細胞外へと排出され、耐性となっていることを発見しました。この P 糖たんぱく質（*ABCB1*）は細胞膜上に存在する *ABC* トランスポーターファミリーの 1 つであり、ATP を駆動力として毒素をはじめとして様々な化合物を細胞外へ排出します。がんにおいては、P 糖たんぱく質が過剰発現することで、ドセタキセルをはじめとして様々な化学療法剤に耐性を獲得するようになることが明らかとされてきました。これまでに化学療法剤への多剤耐性機構の 1 つとしての P 糖たんぱく質過剰発現については多くの研究がなされてきましたが、近年の分子標的薬に対する耐性機構としても実際に重要な役割を果たすのかどうかは明らかではありませんでした。本研究において我々は、*ALK* 陽性肺がんのセリチニブ耐性症例から P 糖たんぱく質の過剰発現による耐性を発見し、さらにクリゾチニブに対する耐性にも関与することを明らかにしました。この P 糖たんぱく質の過剰発現によるセリチニブ耐性を克服するために、かつて化学療法剤耐性を克服するために開発が進められてきた P 糖たんぱく質の阻害剤（*MS209*）を用いてセリチニブとの併用療法を試みた結果、*MS209* の併用で P 糖たんぱく質によるセリチニブやクリゾチニブ耐性が克服されました。さらに、他の *ALK* 阻害薬についても検討したところ、アレクチニブ（第 2 世代 *ALK* 阻害薬、日・米において承認）は、P 糖たんぱく質過剰発現による薬剤感受性の変化はなく、P 糖たんぱく質が過剰発現したセリチニブ耐性患者由来の細胞株にも低濃度で増殖抑制効果を示しました。次に P 糖たんぱく質を介した耐性が他の症例でも見られるかどうかを明らかにするためにさらに 10 例の *ALK* 阻害薬耐性症例を用いて P 糖たんぱく質の発現を免疫染色法にて検討した結果、さらに 2 例において P 糖たんぱく質の過剰発現を発見し、うち 1 例では生検検体より樹立した細胞株においても P 糖たんぱく質が過剰発現しセリチニブ耐性に大きく寄与していることが確認できました。残念ながらがん幹細胞性との関与を直接示すことはできていませんが、実際の分子標的薬耐性症例において、薬物排出トランスポーターを介した耐性が生じることを明らかにした本研究の臨床的意義は大きく、他のタイプのがんでの検討やメカニズムの解明など更なる研究も必要です。