

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：酵素活性プロテオミクスを用いた新規がん治療標的の探索と治療法開発
2. 研究開発代表者： 足立 淳 国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所
プロテオームリサーチプロジェクト・プロジェクト研究員

3. 研究開発の成果

がんの本態解明のため、遺伝子・タンパク質・代謝物など様々な物質の動態が大規模に定量されている。我々は新たな切り口として、薬剤の直接の標的であるタンパク質に焦点をあて、存在量ではなく、活性をプロテオーム解析することにより、細胞内でどのタンパク質がどれくらい活性を有しているか、また薬剤の刺激により活性がどのように経時変化するかを詳細に調べ、インフォマティクス解析と組み合わせることで分子活性情報に基づいた次世代型創薬戦略の構築を目指している。

具体的には、分子標的薬の主要な標的である ATP をエネルギー源とする代謝酵素群を測定対象にして、分子標的薬の大きな問題である耐性獲得とその克服をメインテーマとして、耐性機構が不明である同一患者由来薬剤感受性・耐性肺がん細胞株を解析することで肺がんにおける分子標的薬に対する未同定の耐性メカニズムを明らかにし、分子標的薬に対して不応となった際の新たな治療法の開発につながる成果を得ることを目的とする。

平成 27 年度は主に酵素活性プロテオミクス解析基盤の構築及び肺がん細胞株の樹立を行った。酵素活性プロテオミクス解析基盤の構築については、感度と定量性を重視した開発を行った。感度については活性測定反応条件の検討を詳細に行うことでキナーゼ同定数を 278 個にまで増やすことに成功した。また定量性についても、反応停止条件や基質量による反応への影響の基礎検討を行った。またタンパク質、タンパク複合体、シグナルの各階層における情報解析処理系の構築を行った。

さらに EGFR 変異陽性や ALK 陽性肺がん患者検体の分子標的薬治療前後の検体を収集し、1 ペアの治療前後検体と、10 株以上の耐性細胞株の樹立に成功した。さらに培養細胞からの耐性細胞に加えて、現在臨床試験が実施されている AZD9291、Ceritinib、PF-06463922 (Lorlatinib) などに対する耐性細胞株を、培養細胞株から新たに樹立することを試み、中程度耐性の細胞株の樹立に成功した。各種 TKI 感受性と、シーケンス解析、リン酸化抗体アレイの解析等による耐性機構の検索を進め、一部ではその耐性機構の同定に成功した。