

要 約

報告番号	甲 ㉔ 第 号	氏 名	額 賀 重 成
<p>主 論 文 題 名</p> <p>Amplification of EGFR Wild-Type Alleles in Non-Small Cell Lung Cancer Cells Confers Acquired Resistance to Mutation-Selective EGFR Tyrosine Kinase Inhibitors (非小細胞肺癌細胞株において野生型EGFRアレルの増幅はEGFR遺伝子変異選択的チロシンキナーゼ阻害剤に対する獲得耐性をもたらす)</p>			
<p>(内 容 の 要 旨)</p> <p>上皮成長因子受容体 (epidermal growth factor receptor : EGFR) 遺伝子変異陽性肺癌ではEGFRチロシンキナーゼ阻害剤 (tyrosine kinase inhibitor : TKI) が高い抗腫瘍効果を示すが、経過中に耐性化することが問題である。第一、第二世代EGFR-TKIを使用した患者の半数でEGFR T790M二次変異が生じ、1年程度で効果が見られなくなる。二次変異に有効な第三世代EGFR-TKIが開発されたが、同様に耐性化することが知られている。第三世代EGFR-TKIの耐性機序は、チロシンキナーゼ部位の点変異、バイパス経路やEGFR下流シグナルの活性化等が報告されているが、十分に解明されていない。耐性機序を解明するためにEGFR遺伝子変異陽性肺癌細胞株 (PC9、H1975) を用いて、第三世代EGFR-TKIであるロシレチニブ、オシメルチニブの慢性曝露を行い、耐性株 (PC9-COR、PC9-AZDR、H1975-COR、H1975-AZDR) を作成した。各耐性株でシングルセルクローニングを行い、各クローンからDNAを採取した。耐性をもたらす遺伝子変化を評価するために、次世代シーケンサーで全エクソーム解析を行った。</p> <p>H1975-COR、AZDRではPIK3CA G118D変異のホモ接合化を認めたが、PIK3CAのsiRNAによりEGFR-TKIへの感受性は回復せず、耐性化への関与は否定された。H1975耐性株では細胞形態の変化、E-cadherinの低下、vimentinの増加を認め、上皮間葉転換が示唆された。また、H1975耐性株ではSrc、AKTのリン酸化が亢進し、Src阻害剤と第三世代EGFR-TKIの併用で細胞増殖が抑制され、耐性化へのSrc-AKT経路の活性化の関与が示唆された。PC9-AZDRではKRAS G13D変異を認め、PC9-CORでは野生型EGFR遺伝子の増幅を認めた。PC9-CORでは野生型EGFRタンパクの増加、定量RT-PCRにより各EGFRリガンドの増加も確認した。野生型EGFR経路活性化の耐性化への関与を確認するために、MigR1レトロウイルスベクターを用いて、H1975に野生型EGFRを過剰発現させた。EGFRリガンド存在下で、MTS-assayおよびEGFR下流シグナルを評価した結果、過剰発現株では第三世代EGFR-TKIへの耐性化を認めた。PCR-CORのクローン (#9) ではロシレチニブと抗EGFR抗体であるセツキシマブの併用で細胞増殖抑制およびアポトーシスの促進を認めた。同様にPC9-COR#9を移植したxenograft modelで、同薬の併用による腫瘍縮小を確認した。</p> <p>以上より、野生型EGFR経路の活性化が第三世代EGFR-TKI耐性化を引き起こすことを明らかにした。</p>			