

令和 2 年 6 月 12 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K15251

研究課題名(和文) BRAF遺伝子変異陽性肺癌の臨床像、薬剤感受性に関する研究

研究課題名(英文) Research of clinical profile and drug sensitivity of BRAF mutation-positive lung cancer

研究代表者

池村 辰之介 (IKEMURA, Shinnosuke)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・助教

研究者番号：30445291

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本邦最大規模の肺癌遺伝子変異検索システム LC-SCRUM-Japanのデータ解析を行った。非小細胞肺癌の34例(非小細胞肺癌の約5%)にBRAF遺伝子変異が認められた。V600E 41%、それ以外は59%であった。患者背景としては、年齢中央値65歳、男：女 23例(68%)：11例(32%)、65%が喫煙者であった。腺癌91%、他、非小細胞肺癌(NOS)、多形癌であった。上記の各遺伝子変異のレトロウイルスベクターを作成し、各BRAF遺伝子変異を導入したBa/F細胞株を4種類を作成、BRAF阻害薬、MEK阻害薬とその併用による薬剤感受性試験を行い、データ解析中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

BRAF遺伝子変異を有する希少な肺癌の臨床的特徴を明らかにするとともに、遺伝子変異導入細胞により薬剤感受性とその機構を明らかにする研究である。BRAF遺伝子変異肺癌の治療や更なる分子生物学的機序の解明に繋がるものである。研究結果の活用により、BRAF遺伝子変異だけでなく、他の希少遺伝子変異を有する悪性腫瘍に適用できると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We analyzed data from LC-SCRUM-Japan, the largest lung cancer gene mutation retrieval system in Japan. The BRAF gene mutation was found in 34 cases of non-small cell lung cancer (about 5% of non-small cell lung cancer), 41% in V600E and 59% in the others. Patient background was median age 65 years, male: 23 (68%) female: 11 (32%), and 65% were smokers. Adenocarcinoma (91%), non-small cell lung cancer (NOS), and polymorphic carcinoma. A retroviral vector for each of the above gene mutations was created, and four types of Ba/F cell lines carrying each BRAF gene mutation were created, and drug sensitivity tests with BRAF and MEK inhibitors and their combination were conducted, and data analysis is ongoing.

研究分野：腫瘍生物学関連

キーワード：非小細胞肺癌 BRAF 希少肺癌

1. 研究開始当初の背景

本研究は“ 稀な遺伝子変異陽性肺癌 BRAF 遺伝子変異陽性肺癌 ” に焦点を当てた研究である。世界中で年間 100 万人以上の新規患者が発生する肺癌は癌死因第 1 位の予後不良な疾患である。多くの研究がなされ、分子レベルで病態が明らかになってきている。ドライバーがん遺伝子変異として、2004 年に EGFR 遺伝子変異、2006 年に EML4-ALK 融合遺伝子が同定された。これら頻度の高い遺伝子変異を有する肺癌に対して、有効な分子標的治療薬が開発され、治療成績を大幅に改善してきた。しかし、適切な分子標的治療薬による治療を受けられる肺癌患者は全体の半数程度であり、それ以外の患者群は依然として予後不良である。非小細胞肺癌の 1~3% に BRAF 遺伝子変異が報告されており、世界中で年間 2 - 4 万人以上の新規患者が発生していると予想される。しかし、十分な研究がなされておらず、詳細な薬剤感受性の解析データは存在しない。研究の進まない理由としては、EGFR などの遺伝子変異と比較して稀であることが挙げられる。現在、本邦で BRAF 遺伝子変異陽性肺癌に対して承認されている薬剤はない。

BRAF 遺伝子変異は悪性黒色腫の約 30% に認められ、BRAF 阻害薬である Vemurafenib (Nature, 2010)、Dabrafenib (Lancet, 2012) やコンパニオン診断薬も日常臨床で使用されている。またその下流の MEK を阻害する Trametinib を併用することにより、更なる治療成績の向上がみられている。(Lancet, 2015)

BRAF 遺伝子変異陽性肺癌の臨床試験としては BRAF V600E 変異陽性非小細胞肺癌に対しては Vemurafenib 単剤療法 (N Engl J Med, 2015)、Dabrafenib 単剤療法 (Lancet Oncol, 2016)、Dabrafenib と Trametinib の併用療法 (Lancet Oncol, 2016) の有効性が報告されている。しかし、対象は V600E 変異のみで、その他の希少な遺伝子変異は含まれていない。今後も希少性がゆえに、大規模臨床試験が行われる可能性は低い。

近年、次世代シーケンサー (NGS: Next Generation Sequencing) を用いた肺癌における遺伝子変異の同定が活発に行われ、臨床導入も近い。その中で、EGFR 遺伝子変異や EML4-ALK 融合遺伝子以外の稀な遺伝子変異が急速な勢いで同定されている。これら稀な遺伝子変異はそれぞれ単独では患者数も少なく、有効な治療法があるのか否かも明らかではない。そのため、これらの肺癌患者は有効な治療を受けていない現状があり、予後は依然として不良である。このような医療の進歩の恩恵を十分に受けられていない稀な遺伝子変異を有する肺癌患者は総数で世界に数十万人以上存在すると考えられるが、個々の遺伝子変異のパターンが多様性に富んでいるため、研究が遅れているのが現状である。

全国規模の肺癌遺伝子変異解析スクリーニングシステム LC-SCRUM-Japan でもこれまでの報告と同等の頻度で BRAF 遺伝子変異肺癌が検出されている。そして、そのうちの約 6 割は V600E 以外の、さらに稀な遺伝子変異を有している。NGS を用いた網羅的遺伝子変異検索は医学の進歩には必須であるが、稀な遺伝子変異が見つかった場合、その遺伝子変異を有する癌患者に対して有効な治療法がない場合が多く、治療方針に反映されない「ただの遺伝子変異情報」となってしまう。つまり、遺伝子検索のみで、解析結果を有効に臨床に還元できていない現状がある。そのため、さらにもう一歩進んだ、各遺伝子変異に対しての機能的解析と治療法の確立を進めねばならない。

2. 研究の目的

本研究は、V600E 以外のさらに稀な遺伝子変異を含めた BRAF 遺伝子変異陽性肺癌に焦点を当て、

- (1) BRAF 遺伝子陽性肺癌患者の臨床解析
 - (2) 肺癌患者由来の遺伝子変異情報を用いた in vitro の薬剤感受性解析
 - (3) 臨床に繋がる治療法の提案、臨床試験・治験の導出
 - (4) 機能解析、構造解析により BRAF 遺伝子の更なる分子生物学的意義の解明
- が目的である。

ただし、現実的に多様性に富む遺伝子変異を臨床試験に導出するのは患者登録の観点から効率的ではない。個々の遺伝子変異に対する薬剤感受性解析データを蓄積し学会発表、論文、Web で公開することで、稀な BRAF 遺伝子変異を有する肺癌患者の主治医が有効な薬剤の有無を把握できるようにするとともに、本研究が進むことで、稀な遺伝子異常を有する肺癌患者に最適な治療方法を提案できるようになる。

本研究を行う意義は以下の点である。

- ・各遺伝子変異に応じて患者毎に治療内容を決定する Precision medicine をより一層推し進めることが可能になる点。
- ・本研究が進むことで肺癌における BRAF 遺伝子変異陽性肺癌の有効な治療薬が判明し、多くの肺癌患者に適切な治療を行うことが可能になる点。
- ・BRAF の中でも稀な変異を研究することより、さらに BRAF 遺伝子の分子生物学的意義が解明される点。

3. 研究の方法

- (1) LC-SCRUM-Japan における BRAF 遺伝子変異肺癌患者の臨床的背景、治療効果、予後などを明らかにする。

(2) BRAF 遺伝子変異の種類により BRAF 阻害薬に対する感受性を明らかにする。感受性の評価のための具体的な方法は以下を予定している。

- ・各種遺伝子変異を有する BRAF を恒常的に発現する細胞株(Ba/F3 cell を用いた Stable cell line)を作成する。

- ・ BRAF 阻害薬である Vemurafenib あるいは Dabrafenib によって、それら細胞株の増殖能は抑制、アポトーシスは誘導されるかを検討する。

- ・ BRAF 阻害薬である Vemurafenib あるいは Dabrafenib に MEK 阻害薬 Trametinib あるいは Cobimetinib を加えることによって、更なる抗腫瘍効果をもたらすかを検証する。

- ・ さらに BRAF パスウェイの ERK や、PI3K-AKT パスウェイなどの分子標的薬との相互作用も解析する。

(3) 有望な治療法があれば、xenograft model mouse でも薬剤感受性を確認する。

以上により in vitro、in vivo の感受性データを蓄積し、それらを学会で報告するとともに、論文発表、データを公表する。これにより、BRAF 遺伝子変異肺癌患者に対する適切な治療が可能と考えられる。

また、本研究により BRAF 遺伝子の更なる分子生物学的機序の解明を行う。

4 . 研究成果

本邦最大規模の肺癌遺伝子変異検索システム LC-SCRUM-Japan のデータ解析を行った。非小細胞肺癌の 34 例(非小細胞肺癌の約 5%)に BRAF 遺伝子変異が認められた。遺伝子変異の内訳としては V600E 41%、K601E 16%、G469A・D594G 共に 8%、他はそれぞれ 5%未満であり、全 19 種類と多様であった。欧米の既報より高い割合であったが、患者選択の違いによるものと考えられる。V600E は他のドライバー遺伝子を認めなかったが、それ以外の BRAF 遺伝子変異は K-RAS や EGFR 遺伝子変異が共存していた。患者背景としては、年齢中央値 65 歳、男：女 23 例(68%)：11 例(32%)、65%が喫煙者であった。腺癌が 91%であり、他、非小細胞肺癌(NOS)、多形癌において BRAF 変異が認められた。

上記の各遺伝子変異のレトロウイルスベクターを作成し、各 BRAF 遺伝子変異を導入した Ba/F 細胞株 4 種類を作成した。

BRAF 阻害薬である Vemurafenib、Dabrafenib、MEK 阻害薬である Trametinib、Cobimetinib とその併用による薬剤感受性試験を行い、細胞株毎、薬剤毎に抗腫瘍効果が異なり、薬剤併用による相乗効果を認める知見を得た。現在、それぞれの細胞株毎のパスウェイ解析を行い、データ解析中である。

BRAF 遺伝子変異だけでなく、他の希少遺伝子変異を有する悪性腫瘍に適応できる、有望な研究結果であり、今後も研究継続を行いたいと考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----