

令和 4 年 6 月 16 日現在

機関番号：24303

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22820

研究課題名（和文）ALK肺がんにおける治療抵抗性の解明と克服治療の開発

研究課題名（英文）Elucidation and overcoming the drug tolerant mechanism in ALK-rearranged lung cancer

研究代表者

谷村 恵子（Tanimura, Keiko）

京都府立医科大学・医学（系）研究科（研究院）・研修員

研究者番号：10768807

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,000,000円

研究成果の概要（和文）：ALK遺伝子異常を有する肺がんはALK阻害薬が著効するが、治療抵抗性細胞が生き残り、耐性化することが知られている。ALK肺がんにおける治療抵抗性機序として、ALK阻害薬によって誘導されるHER3シグナル活性化が関与することが示された。また間葉上皮転換も誘導されており、これらの変化は転写調節因子のZEB1を介していた。間葉系の性質をもつALK肺がんでは、HERファミリー阻害薬をALK阻害薬と併用することでHER3の活性化を抑制し、ALK阻害薬単剤よりも腫瘍増殖を強く抑制できた。臨床検体を用いた検討では、治療前のvimentin発現が高い腫瘍はalectinibによる治療予後が不良であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ドライバー遺伝子異常に起因する肺がんに対しては、がん分子標的治療薬が高い治療効果を示す。しかし治療を継続することにより耐性を獲得するため、耐性克服は重要な課題の一つである。耐性化後の治療介入が困難である背景から、分子標的治療薬の初期治療抵抗性に対する治療を行うことで、耐性獲得を予防するというアプローチが、肺がん患者の予後のさらなる改善に繋がる新たな治療戦略になる可能性を秘めている。本研究では、ALK肺がんの中でもALK阻害薬への感受性が低い集団に対し、HER3阻害による治療抵抗性克服の可能性を見出しており、臨床的意義は高いと考えられる。

研究成果の概要（英文）：ALK inhibitors have shown dramatic efficacy in patients with ALK-rearranged lung cancer; however, survived drug-tolerant cells will develop to tumor recurrence. Here, we investigated the molecular mechanisms underlying the emergence and maintenance of drug-tolerant cells in ALK-rearranged lung cancer. Cell based-assays demonstrated that HER3 activation and mesenchymal-to-epithelial transition, mediated through ZEB1 proteins, help maintain cell survival and induce the emergence of ALK-TKI-tolerant cells. Compared with ALK inhibitor alone, cotreatment with pan-HER inhibitor afatinib and ALK inhibitor prevented tumor regrowth via suppression of HER3 signaling, leading to the eradication of tumors in ALK-rearranged tumor with mesenchymal features. Moreover, pre-treatment vimentin expression in clinical specimens obtained from patients with ALK-rearranged lung cancer was associated with poor outcomes in alectinib treatment.

研究分野：分子腫瘍学

キーワード：ALK 肺がん 治療抵抗性 HER3 間葉上皮転換 alectinib vimentin

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肺がんは他のがん種と比較し死亡率が高いことが知られているが、一部のドライバー遺伝子異常に起因する肺がんに対してはがん分子標的治療薬が高い治療効果を示し、大幅な予後の改善が得られるようになった。一方、治療を継続することによりがん分子標的治療薬に対する耐性を獲得することが知られており、耐性克服については重要な課題の一つである。これまでの検討で治療薬への曝露でも細胞死に至らず、生存する治療抵抗性細胞 (drug-tolerant persisters) がその後の耐性化にも関与していることが判明し、近年注目を集めている。

この治療抵抗性細胞は、細胞内シグナル伝達や代謝の変化を通して細胞死を回避し生存するが、持続的な薬剤刺激によって二次的な遺伝子異常やエピジェネティックな耐性変化を獲得することで、腫瘍の耐性化が進むと考えられている。よって、分子標的治療の初期段階から治療抵抗性細胞への治療介入を行うことで、耐性獲得への発展を防ぎうる可能性があり、治療抵抗性機構の解明と克服治療法の開発を目的として多くの研究が行われてきた。

2. 研究の目的

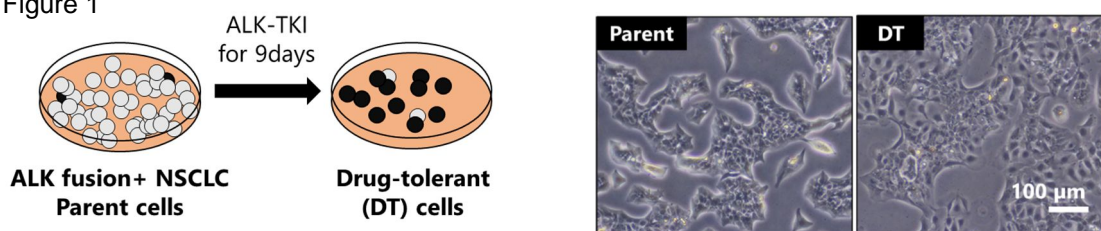
ALK 遺伝子異常は非小細胞肺癌のおよそ 3-5%で認められるドライバー遺伝子異常の一つである。ALK 阻害薬が著効する一方で、治療継続によって様々な機序の耐性を獲得することが知られており、耐性化した後の治療介入は容易ではない現状を踏まえ、耐性獲得の予防といった観点からのアプローチが有効である可能性がある。

本研究では、ALK 遺伝子異常陽性肺がんに対し、分子標的治療薬投与時の初期治療抵抗性に関わる分子生物学的特性を解明し、治療法を開発することと、治療抵抗性を示す症例を治療開始前の段階で選別可能なバイオマーカーの開発を主たる目的とする。

3. 研究の方法

(1) 治療抵抗性細胞の解析: ALK 肺がん細胞株を高濃度の ALK 阻害薬 (alectinib、brigatinib) で 9 日間処理し、生存した治療抵抗性細胞 (DT) における細胞内シグナル伝達に参与する蛋白・mRNA 発現を解析した。さらに、ALK シグナル阻害によって誘導される治療抵抗性シグナル経路に対する阻害薬を用い、治療抵抗性が克服されるか検証した。(Figure 1)

Figure 1

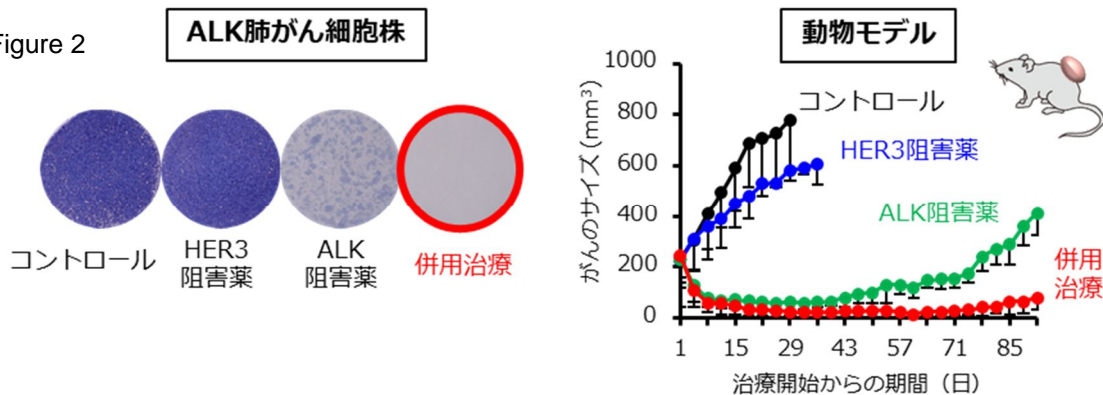


(2) ALK 肺がんの臨床検体 (生検検体) を用い、治療抵抗性と関連する分子の発現状況と ALK 阻害薬の alectinib による治療効果 (生存期間) との関連を検証した。

4. 研究成果

ALK 肺がん細胞株 (H2228、A925L) において、ALK 阻害薬によって誘導された DT 細胞では、HER3 シグナルの活性化が認められた。ALK 阻害薬に pan-HER ファミリー阻害薬である afatinib を治療初期から併用することで、フィードバックによって活性化される HER3 シグナルを抑制し、腫瘍の生存・増殖を強力に抑制することが可能であった。さらに長期間の ALK 阻害薬への曝露によって腫瘍の再増殖がみられたが、併用治療によって治療の初期段階から治療抵抗性細胞の生存を抑制することで、耐性の獲得を防ぎ、長期間にわたる抗腫瘍効果が得られる可能性が示された。(Figure 2)

Figure 2



この HER3 の活性化には上皮間葉転換の転写制御因子である ZEB1 が関与しており、ZEB1 の発現を抑制すると、間葉上皮転換と共に HER3 の活性化が誘導された。(Figure 3)
 また、ALK 融合遺伝子陽性肺癌の中でも治療開始時点で間葉系の性質をもつ腫瘍は ALK 阻害薬への感受性が低く、afatinib の併用によって抗腫瘍効果が増強した。(Figure 4)

Figure 3

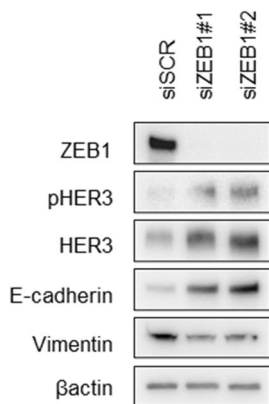
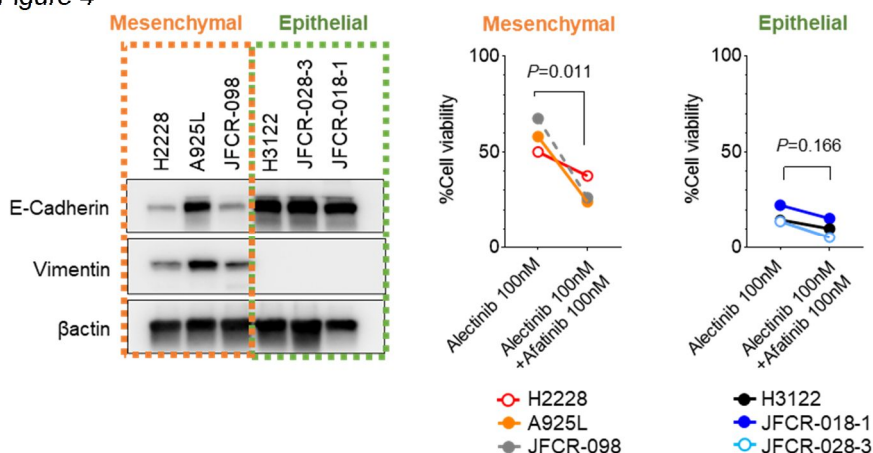
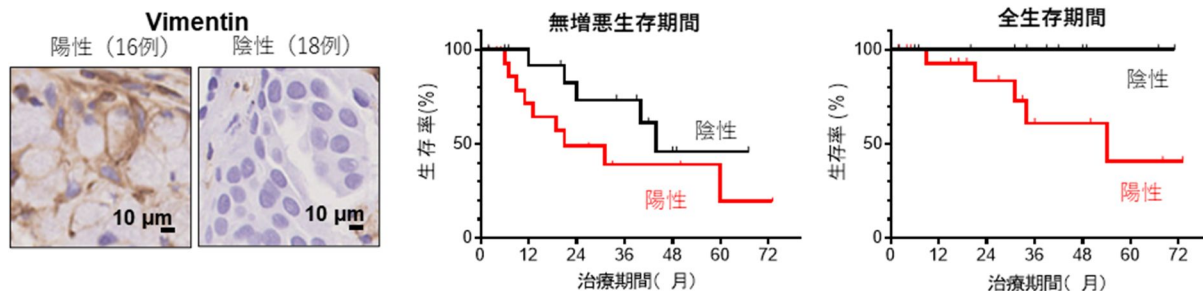


Figure 4



さらに、ALK 肺癌患者の臨床検体を用いて、間葉系マーカーである vimentin の発現と alectinib 治療における予後との関連について検討を行った。34 例の ALK 肺癌症例のうち、vimentin 陽性は 16 例であり、alectinib 治療における無増悪生存期間及び全生存期間は、いずれも vimentin 陰性例と比較し短縮する傾向が示された。(Figure 5)

Figure 5



以上の結果から、ALK 肺癌の中でも間葉系の性質を有する腫瘍は ALK 阻害薬に対する感受性が低く、HER3 活性化による初期治療抵抗性が関与していること、pan-HER ファミリー阻害薬の併用治療によって治療抵抗性細胞の生存を抑制し、耐性獲得の予防によって長期間にわたる腫瘍抑制効果が期待できる新たな治療法となる可能性が示された。
 これらの結果は『NPJ Precision Oncology』誌に投稿し、2022 年 1 月に掲載された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tanimura K, Yamada T, Okada K, Nakai K, Horinaka M, Katayama Y, Morimoto K, Ogura Y, Takeda T, Shiotsu S, Ichikawa K, Watanabe S, Morimoto Y, Iwasaku M, Kaneko Y, Uchino J, Taniguchi H, Yoneda K, Matoba S, Sakai T, Uehara H, Yano S, Kusaba T, Katayama R, Takayama K.	4. 巻 6
2. 論文標題 HER3 activation contributes toward the emergence of ALK inhibitor-tolerant cells in ALK-rearranged lung cancer with mesenchymal features	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 NPJ precision oncology	6. 最初と最後の頁 5
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41698-021-00250-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 谷村 恵子
2. 発表標題 ALK融合遺伝子陽性肺がんのHER3活性を介したALK-TKI初期治療抵抗性の解明
3. 学会等名 第61回日本肺癌学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 谷村 恵子、山田 忠明、岡田 康太郎、米田 和恵、酒井 敏行、堀中 真野、矢野 聖二、片山 量平
2. 発表標題 ALK 融合遺伝子陽性肺がんの初期治療抵抗性機構の解明とその克服法の開発
3. 学会等名 第24回日本がん分子標的治療学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Keiko Tanimura, Koutaroh Okada, Kazue Yoneda, Seiji Yano, Mano Horinaka, Toshiyuki Sakai, Ryohei Katayama, Tadaaki Yamada
2. 発表標題 HER3 is a potent therapeutic target for prevention of tolerant cells to ALK inhibitors in ALK-rearranged lung cancer
3. 学会等名 第 79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Keiko Tanimura
2. 発表標題 Overcoming drug tolerance to ALK inhibitor in ALK positive lung cancer
3. 学会等名 The 25th Congress of the Asian Pacific Society of Respiriology
4. 発表年 2021年

〔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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------