

令和 6 年 6 月 3 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K07172

研究課題名(和文) EGFR肺癌の髄膜癌腫症におけるEGFR-TKI耐性克服治療の開発

研究課題名(英文) Overcoming ARID1A mutation-induced osimertinib resistance in EGFR-mutant NSCLC leptomeningeal carcinomatosis

研究代表者

福田 康二 (Fukuda, Koji)

金沢大学・がん進展制御研究所・助教

研究者番号：10722548

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)：OsimertinibはEGFR変異肺癌に有効な治療薬であり、中枢神経系転移にも効果的ですが、1～2年で耐性を獲得し、特に髄膜癌腫症(LMC)の予後が不良です。我々はOsimertinib耐性機序を解明し、新規治療戦略を探るため、マウスモデルでOsimertinib耐性株を樹立しました。次世代シーケンシングで耐性株にARID1A変異を同定し、CRISPR-Cas9スクリーニングにより、WEE1阻害が耐性株のアポトーシスを強力に誘導することを発見しました。これにより、ARID1A変異が耐性の原因となり、WEE1が有望な治療標的である可能性が示唆されました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

OsimertinibはEGFR変異肺癌に対する有効な治療法ですが、1～2年で耐性を獲得し、特に髄膜癌腫症(LMC)の予後が不良です。我々の研究では、耐性の原因としてARID1A変異を同定し、CRISPR-Cas9スクリーニングを通じてWEE1阻害が耐性株のアポトーシスを誘導することを発見しました。この成果は、特に脳転移を起こした肺癌患者の治療法の開発に向けた新たな道を開き、予後改善に貢献する可能性があります。

研究成果の概要(英文)：Osimertinib is an effective treatment for EGFR-mutant lung cancer and is also effective against central nervous system (CNS) metastases. However, resistance typically develops within 1-2 years, leading to poor prognosis, especially in leptomeningeal carcinomatosis (LMC). To elucidate the mechanisms of Osimertinib resistance and explore new therapeutic strategies, we established Osimertinib-resistant cell lines using a mouse model. Next-generation sequencing identified ARID1A mutations in the resistant cells. CRISPR-Cas9 screening revealed that WEE1 inhibition strongly induced apoptosis in these resistant cells. These findings suggest that ARID1A mutations contribute to resistance and that WEE1 is a promising therapeutic target.

研究分野：分子腫瘍学、腫瘍内科

キーワード：肺癌 EGFR ARID1A Osimertinib WEE1 髄膜癌腫症 CNS

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

肺癌はわが国における癌による死亡原因の第1位であり、アジア人の肺癌の約50%においてEGFR遺伝子変異が検出され、さらにEGFR-TKI治療を行った患者の15-30%においてCNS転移が確認されている。髄膜癌腫症や脳転移などのCNS転移は、頭痛や神経障害などを引き起こし患者のQOLを著しく低下させる。第1世代のEGFR-TKIであるGefitinibやErlotinibはEGFR肺癌に高い抗腫瘍効果を示すが、しばしばCNS転移で獲得耐性を生じる。2016年に本邦で承認された第3世代のEGFR-TKIであるOsimertinibは、CNSへの移行性が高く、EGFR肺癌のCNS転移に高い抗腫瘍効果を示す(JAMA Netw Open 3, 2020)。一方で、CNS転移におけるOsimertinib獲得耐性が報告されている(Oncologist 23:1199-1209, 2018)。

これまでにEGFR肺癌におけるOsimertinibへの獲得耐性機構としてEGFR-C797S変異や側副シグナルの活性化等が報告されているが、CNS転移におけるEGFR-TKI獲得耐性機構は明らかになっていない。よって、CNS転移でのEGFR-TKI獲得耐性機構の解明および有効な治療法の確立は急務の課題と考えられる。

### 2. 研究の目的

本研究では、EGFR肺癌のCNS転移の中で最も臨床的に治療に難渋する髄膜癌腫症に焦点を絞り、髄膜癌腫症におけるOsimertinib耐性機構を解明し、獲得耐性を克服する治療法を開発することを目的とする。

### 3. 研究の方法

- モデル作成：ヒトのEGFR肺癌細胞株を用いて、マウス髄腔移植モデルを作成した。
- 耐性腫瘍の作成：Osimertinibを30日間投与することで耐性腫瘍を作成し、次世代ゲノムシーケンサー(NGS)で解析を行った。
- ノックアウトスクリーニング：CRISPR-Cas9を用いたノックアウトスクリーニングを行った。
- mRNA解析：RNA発現解析により親株、耐性株を比較した。

### 4. 研究成果

まずヒトのEGFR肺癌細胞株を用いて、マウス髄腔移植モデルを作成した。オシメルチニブに耐性化させた腫瘍細胞を次世代ゲノムシーケンサー(NGS)で遺伝子解析を行った結果、ARID1A遺伝子の変異が耐性化に関与していることを発見した。ARID1A遺伝子をノックアウトした細胞株は耐性を示し、逆に野生型のARID1A遺伝子を導入した細胞株では、薬剤感受性が回復したことから、ARID1Aの発現がOsimertinib耐性と直接関連していることが示唆された。ARID1Aノックアウトと耐性株でのARID1A過剰発現の実験により、Osimertinib耐性への関与が示唆された。次に、耐性克服標的を同定するために、746のcrRNAライブラリーを用いてCRISPR-Cas9による遺伝子ノックアウトスクリーニングを行った。その結果、WEE1阻害が耐性株のアポトーシスを強力に誘導することを見出した(図1)。mRNAの網羅的解析を行った結果、耐性株では、ATM-RAD51を介したDNAの修復機能が低下しており、WEE1阻害がG2/M転移を介して細胞分裂死を誘導すると考えられた(図2)。この知見は、EGFR変異肺癌においてARID1A変異が耐性の原因となり、WEE1が治療標的として有望である可能性を示唆している。今後は、in vivoマウスモデルでの治療実験を行い、実臨床への応用を目指していく。

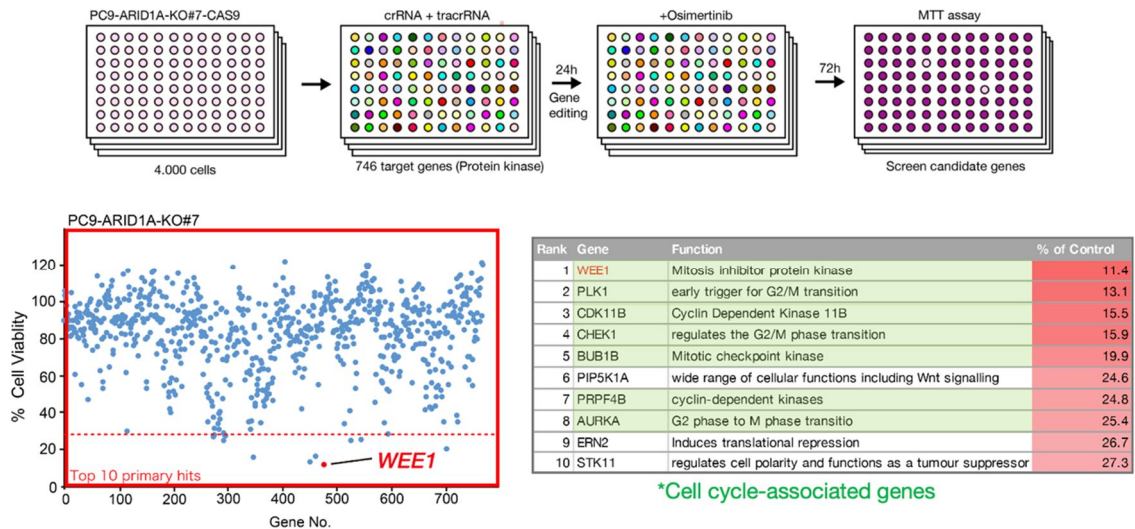


図 1. 耐性株の遺伝子ノックアウトスクリーニングにより、WEE1 が最も効果があることを示唆。

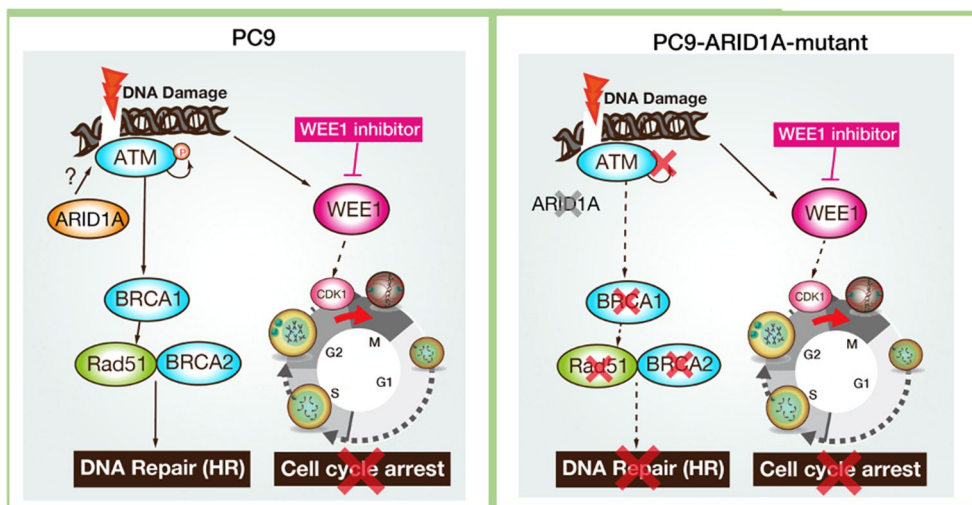


図 2. 耐性株で WEE1 が効果を示すメカニズム。DNA 修復に関する経路の遺伝子が低下しており、WEE1 阻害に対してより脆弱になっていると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Koji Fukuda, Sakiko Otani, Shinji Takeuchi, Sachiko Arai, Shigeki Nanjo, Azusa Tanimoto, Akihiro Nishiyama, Katsuhiko Naoki, Seiji Yano	4. 巻 112
2. 論文標題 Trametinib overcomes KRAS-G12V-induced osimertinib resistance in a leptomeningeal carcinomatosis model of EGFR-mutant lung cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Sci.	6. 最初と最後の頁 3784-3795
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.15035	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 -

1. 著者名 Koji Fukuda, Shinji Takeuchi, Sachiko Arai, Shigeki Nanjo, Shigeki Sato, Hiroshi Kotani, Kenji Kita, Akihiro Nishiyama, Hiroyuki Sakaguchi, Koshiro Ohtsubo, Seiji Yano	4. 巻 -
2. 論文標題 Targeting WEE1 enhances the antitumor effect of KRAS-mutated non-small cell lung cancer harboring TP53 mutations.	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Cell Reports Medicine	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.xcrm.2024.101578	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 2件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 福田康二, 竹内伸司, 新井祥子, 南條成輝, 矢野聖二
2. 発表標題 EGFR変異髄膜癌モデルにおけるARID1A変異によるオシメルチニブ耐性獲得とその克服治療の確立
3. 学会等名 第82回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 福田康二, 竹内伸司, 新井祥子, 南條成輝, 小谷浩, 西山明宏, 矢野聖二
2. 発表標題 TP53変異型KRAS陽性非小細胞肺癌におけるWEE1を標的とした新規治療法の開発
3. 学会等名 第64回日本肺癌学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Koji Fukuda
2. 発表標題 Overcoming ARID1A mutation-induced osimertinib resistance in EGFR-mutant NSCLC leptomeningeal carcinomatosis
3. 学会等名 SANTOプロジェクト・次世代北信がんプロ・WPI国際セミナー（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 福田康二, 竹内伸司, 新井祥子, 矢野聖二
2. 発表標題 EGFR変異髄膜癌モデルにおけるARID1A変異によるオシメルチニブ耐性獲得とその克服治療の確立
3. 学会等名 第28回日本がん分子標的治療学会学術集会
4. 発表年 2024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		
米国	University of California San Francisco		