

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 9 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K07261

研究課題名(和文) miR-200sを標的とした肺癌のEMTに起因するTKI耐性克服治療の開発

研究課題名(英文) Development of treatment to overcome TKI resistance caused by EMT in lung cancer

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) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：分子標的薬の獲得耐性機構として上皮間葉転換(EMT)が注目されており、耐性機構の一因であることが示唆されるが、その克服治療法は確立されていない。オシメルチニブ耐性肺癌細胞を用いた実験では、miR-200cの減少とZEB1の増加によるEMTの誘導が示唆された。100種類のキナーゼ阻害剤ライブラリを用いた薬物スクリーニングの結果、グリコーゲン合成酵素キナーゼ3(GSK-3)阻害剤が間葉表現型を持つ耐性細胞の増殖を著しく阻害し、アポトーシスを誘導することが示された。これらの結果は、GSK-3阻害がEGFR変異肺癌におけるEMTに起因するオシメルチニブ耐性の克服に有用であることを示唆した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肺癌に対して分子標的薬が有効であるが、多くの場合、薬剤耐性化することが問題になっている。その原因として、EMT(上皮間葉転換)が知られ、肺癌だけでなく、乳癌、膵癌、卵巣癌など多くの癌において報告されている。しかしながら、これまでに臨床においてEMTによる耐性を克服できる薬剤は見つかっていない。

本研究において、EMTによる薬剤耐性化したがんを殺すための薬剤を探索した結果、GSK-3阻害薬が有効であることを見出した。今後、動物実験や臨床試験を行い、これまで治療法のなかったEMTに起因する耐性克服治療が可能となれば、肺癌だけでなく多癌種に広く応用できる可能性があり、臨床的意義は高いと考えられる。

研究成果の概要(英文)：A novel EGFR tyrosine kinase inhibitor, osimertinib, has marked efficacy in patients with EGFR mutant lung cancer. While epithelial mesenchymal transition (EMT) plays a role in the resistance to various targeted drugs, its involvement in EGFR inhibitor resistance remains unknown. Preclinical experiments with osimertinib resistant lung cancer cells showed that EMT was associated with decreased miR-200c and increased ZEB1 expression. Drug screening from a library of 100 kinase inhibitors indicated that Glycogen synthase kinase 3 (GSK-3) inhibitors, such as LY2090314, markedly inhibited the growth and induced apoptosis of resistant cells, specifically those with a mesenchymal phenotype. These results suggest that GSK-3 inhibition could be useful to circumvent EMT associated resistance to osimertinib in EGFR mutant lung cancer.

研究分野：分子腫瘍学

キーワード：EGFR 肺癌 薬剤耐性 EMT オシメルチニブ GSK-3

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

レセプターチロシンキナーゼ阻害薬(TKI)は、ALK 融合遺伝子陽性肺癌(ALK 肺癌)や EGFR 変異肺癌(EGFR 肺癌)に著効を示す分子標的薬であり、臨床で使用されている。しかし、顕著な腫瘍縮小が見られた場合でも1~2年程度で耐性を獲得することが重要な課題である。近年、分子標的薬の獲得耐性機構として上皮間葉転換(EMT)が注目されており、耐性機構の一因であることが示唆されているが、その克服治療法は確立されていない。申請者らはこれまでの検討により、miR-200c/141の発現低下を介した経路によりEMTが誘導され、薬剤耐性を獲得していることを見出した。そこで、本研究ではmiR-200c/141の発現を誘導する薬剤の中から臨床応用可能なものを選抜し、肺癌のEMTによる獲得耐性を克服する新規治療法の開発を目的とする。

2. 研究の目的

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、ALK 肺癌、EGFR 肺癌などドライバー変異のあるレセプターチロシンキナーゼに対しては、TKIが著効することが多い。しかしながら、著効例においても1~2年程度の経過でほぼ全ての症例がTKIに耐性を獲得する(獲得耐性)。この臨床上的大きな課題を克服するためには、TKI耐性獲得機序を明らかにし、その分子メカニズムに基づいた耐性克服治療を確立することが必須である。TKI獲得耐性機構としては二次変異がよく知られ、ALK 肺癌では約30%にALKチロシンキナーゼドメインへの二次変異(L1196Mなど)が起こり、ALK-TKI結合性が低下することにより耐性化する(Clin Cancer Res. 2012;18:1472-82)。また他の耐性機構として側副シグナルの関与が知られ、ALK 肺癌ではEGFRやc-KITの活性化が報告されている(Sci Trans Med. 2012;4:120ra17)。一方で、全く異なるTKIへの耐性機序として上皮間葉転換(EMT)が報告された(Cell. 2012;151:937-50)。EMTは上皮系細胞が細胞極性や周囲細胞との細胞接着機能を失い遊走、浸潤能を得ることで間葉系細胞へと変化するプロセスであり、獲得耐性との関連が報告されている。例えば、EGFR 肺癌細胞においてE-cadherin(上皮系マーカー)低発現、Vimentin(間葉系マーカー)高発現の間葉系細胞ではEGFR-TKIであるErlotinibへの感受性が低いことが示された(Cancer Res. 2006;66:944-50)。また、腫瘍組織におけるE-cadherinの低発現(間葉系)は肺癌患者の生命予後不良と関連していることも示唆されている(Clin Cancer Res. 2005;11:8686-98)。このようにEMTによるTKI耐性獲得の報告が増加している一方で、EMTによる薬剤耐性機構は不明であり、EMTを標的とした有効な治療法は確立されていない。本研究では、TKI投与により誘導されるEMTの制御機構を明らかにし、EMTに起因する薬剤耐性を克服する新規治療法を開発することを主たる目的とする。

3. 研究の方法

EGFR 肺癌株において第三世代のEGFR阻害薬であるオシメルチニブへの耐性株を作成しEMTの誘導について検討した。また、100種類のキナーゼライブラリを用いた薬剤スクリーニングを行いEMTを克服するために有効なターゲットのスクリーニングを行った。さらに、その機序の解析を行った。

4. 研究成果

EGFR 肺癌株 H1975 を用いて第三世代のEGFR阻害薬であるオシメルチニブへの耐性株を作成し、クローン調べた結果、EMTの誘導が認められた(Figure 1)。

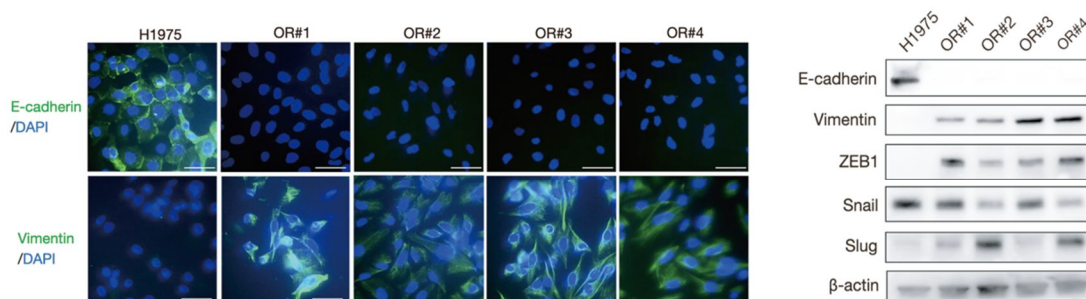


Figure 1

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Koji Fukuda, Shinji Takeuchi, Sachiko Arai, Kenji Kita, Azusa Tanimoto, Akihiro Nishiyama, Seiji Yano	4. 巻 111
2. 論文標題 GSK-3 inhibition overcomes EMT-associated resistance to osimertinib in EGFR mutant lung cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 2374-2384
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 該当する

1. 著者名 Koji Fukuda, Shinji Takeuchi, Sachiko Arai, Ryohei Katayama, et al	4. 巻 79
2. 論文標題 Epithelial-to-Mesenchymal Transition Is a Mechanism of ALK Inhibitor Resistance in Lung Cancer Independent of ALK Mutation Status	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Reseach	6. 最初と最後の頁 1658-1670
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 該当する

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 福田康二
2. 発表標題 Epithelial-to-mesenchymal transition is a mechanism of ALK inhibitor resistance in lung cancer independent of ALK mutation status.
3. 学会等名 IASLC 2019 World Conference on Lung Cancer. 2019年9月（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福田 康二
2. 発表標題 肺がんにおいて上皮間葉転換はALK阻害薬耐性メカニズムとして機能する.
3. 学会等名 第23回日本がん分子標的治療学会学術集会 2019年6月
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福田康二、竹内伸司、片山量平、南條成輝、山田忠明、鈴木健之、竹内健吾、西尾誠人、矢野聖二
2. 発表標題 ALK転座陽性肺癌においてEMTは独立した機構として関与する
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会 2018
4. 発表年 2018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
研究分担者	竹内 伸司 (Takeuchi Shinji) (90565384)	金沢大学・附属病院・講師 (13301)	

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
---------	---------