

機関番号：32202

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009 年度 ～ 2010 年度

課題番号：21790362

研究課題名 (和文) 肺腺癌における c-Met 遺伝子の増幅、過剰発現と機能解析

研究課題名 (英文) Functional analysis of amplification and overexpression of c-Met in lung adenocarcinoma

研究代表者

松原 大祐 (MATSUBARA DAISUKE)

自治医科大学・医学部・助教

研究者番号：80415554

研究成果の概要 (和文) : EGFR、MET の co-activation を示す肺腺癌の一群が存在することに着目し、肺腺癌細胞株と原発性肺腺癌症例の遺伝子発現データを使って、遺伝子異常 (EGFR, MET, HER2 の変異、増幅) と、癌の増殖・浸潤遺伝子発現パターン、薬剤感受性などの細胞生物学的性質をある程度予測できる TTF-1, CK7, MUC1 の発現に基づく分類を提案した (Matsubara et al, Am J Pathol, 2010)。

研究成果の概要 (英文) : We have demonstrated that the 40 cell lines could be classified into two groups: Group I (n=22) characterized by (1) high expressions of TTF-1, MUC1, and CK7, (2) high phosphorylation of EGFR and MET, (3) frequent mutation or amplification of EGFR, MET and HER2, (4) high expressions of E-cadherin, HER3, MET, u-PA, Cox-2, and laminin  $\gamma$ 2 and (5) sensitivity to gefitinib and resistance to cisplatin; Group II (n=18) characterized by (1) triple-negative for TTF-1, MUC1 and CK7, (2) no or a little phosphorylation of EGFR and MET, (3) no mutation or amplification of EGFR, MET and HER2, (4) high expressions of FGFR1, vimentin and TCF8 and (5) resistance to gefitinib and sensitivity to cisplatin (Matsubara et al, Am J Pathol, 2010) .

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2010 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：病理

科研費の分科・細目：人体病理学 呼吸器・縦隔

キーワード：肺腺癌

## 1. 研究開始当初の背景

悪性腫瘍に対する分子標的療法が目覚しく、肺癌においても EGFR 変異、K-ras 変異、MET 増幅、EML4-ALK などが分子標的として研究が推し進められていたが、現行の肺癌の病理組織診断と病期分類のみでは、腫瘍のこうした遺伝子異常、治療反応性などに対応できていなかった。

## 2. 研究の目的

原発性肺腺癌症例における①肺腺癌の細胞組織学的形態、②遺伝子異常、③分化マーカー、癌の増殖、浸潤関連遺伝子の発現、これらの要素を統合解析し、分子標的治療選択に直結した新しい肺腺癌の分類と診断体系の確立。

### 3. 研究の方法

肺腺癌細胞 40 株を用いて、①SNP アレイ解析、ダイレクトシーケンスによる MET 増幅、MET 変異、EGFR 増幅、EGFR 変異、KRAS 変異、HER2 増幅、HER2 変異など背景遺伝子異常の検索、②オリゴヌクレオチドアレイによる遺伝子発現解析、③ウェスタンブロット法による各遺伝子のタンパクレベルの発現、ならびに、EGFR、MET のリン酸化の検討を行った。

### 4. 研究成果

我々は、まず、EGFR、MET の遺伝子異常、活性化に基づいた肺腺癌細胞株の分類 (Group1, Group2) を提唱した。すなわち、Group1 は高頻度に MET、EGFR、HER2 の遺伝子異常 (変異、増幅) と MET、EGFR の高活性化を示し、分化マーカー TTF-1、MUC1、CK7 を高発現し、癌浸潤、増殖、接着などに関連した MET、HER3、E-cadherin、u-PA、COX-2、laminin gamma2 の発現が高かった。一方、Group2 (n=18) は MET、EGFR、HER2 の遺伝子異常がなく、MET、EGFR の活性化レベルも低く、TTF-1、MUC1、CK7 などの分化マーカーの発現は低く、MET、HER3、E-cadherin、u-PA、COX-2、laminin gamma2 などの癌浸潤、増殖、接着などに関連した遺伝子の発現も低く、しかし、vimentin、FGFR1、ZEB1 など EMT 関連分子の発現が高かった。本分類の妥当性を検証するために、肺腺癌症例 442 例の遺伝子発現プロファイルデータ (Nat Med 2008) を用い、Group1、2 に特徴的な遺伝子によってクラスター解析を行ったところ、腺癌症例 442 例は、細胞株同様 Group1、2 群に分類された。さらに 1 群には u-PA、COX-2、laminin C2 など浸潤関連遺伝子が比較的発現の垂群 (1A) とそれ以外の垂群 (1B) が認められた。Group1B、2 群は Group1A 群よりも、喫煙者の割合が高く、組織学的に低分化であり予後不良であった。術後化学療法の有無で予後を比較したところ、術後化学療法による予後の改善傾向は、Group2 群のみに認められた。この結果を踏まえて、培養細胞株で薬剤感受性を検討したところ、Group2 は Group1 に比べて Paclitaxel、Cisplatin に対し感受性を示す一方、Gefitinib に対し抵抗性を示した。KRAS 変異は Group1、Group2 両方に認められたが、面白いことに、KRAS 変異を有する Group2 の細胞株は、KRAS 変異を有する Group1 の細胞株に比べても、Cisplatin に対して感受性を示し、Gefitinib に対して抵抗性を示した。以上の結果より、我々の分類は肺腺癌の予後、薬剤感受性を予測するうえで有用であることが示された (Matsubara et al, Am J Pathol, 2010)。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

- ① Matsubara D, Ishikawa S, Oguni S, Aburatani H, Fukayama M, Niki T. Co-activation of epidermal growth factor receptor and c-Met defines a distinctive subset of lung adenocarcinomas. *Am J Pathol* 2010;177(5):2191-2204.
- ② Matsubara D, Ishikawa S, Oguni S, Aburatani H, Fukayama M, Niki T. Molecular predictors of sensitivity to the MET inhibitor PHA665752 in lung carcinoma cells. *J Thorac Oncol* 2010;5:1317-24.

[学会発表] (計 10 件)

- ① Matsubara D, Ishikawa S, Oguni S, Aburatani H, Fukayama M, Niki T. Classification of lung carcinoma cell lines by integrated information of EGFR and MET abnormalities and gene expression pattern correlated with response to chemotherapy and molecular targeted therapy. Annual Meeting of American Association for Cancer Research (poster presentation), Washington D. C, 2010.
- ② Matsubara D, Ishikawa S, Fukayama M, Niki T. Predictors of sensitivities to MET inhibitor PHA665752 in lung adenocarcinoma cell lines. Annual Meeting of American Association for Cancer Research (poster presentation), Denver, 2009.
- ③ 松原大祐, 石川俊平, 深山正久, 仁木利郎. 病理 3:EGFR, MET の活性化に基づく肺腺癌分類: 予後因子, 薬剤感受性との関連について. 第 51 回日本肺癌学会総会、広島国際会議場、口演発表、2010 年 11 月 3 日-4 日
- ④ 松原大祐, 石川俊平, 深山正久, 仁木利郎. 分子標的セレクション: 肺腺癌における MET 阻害剤に対する感受性と MET, EGFR, KRAS の遺伝子異常、リン酸化について. 第 50 回日本肺癌学会総会、新宿京王プラザホテル、口演発表、2009 年 11 月 12 日-13 日.

[図書] (計 2 件)

- ① 病理と臨床 29 巻臨時増刊号「病理診断に役立つ分子生物学」第 2 部-MET (腫瘍等). 松原大祐, 仁木利郎. 2011
- ② 中山書店「癌診療指針のための病理診

断プラクティス 肺癌」 第3章-前浸  
潤性病変. 松原大祐

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.jichi.ac.jp/pathol/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松原 大祐 (MATSUBARA DAISUKE)  
自治医科大学・医学部・助教  
研究者番号：80415554

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：