

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：24303

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K15514

研究課題名（和文）RETがんにおける初期治療抵抗性のメカニズム解明と克服治療法の開発

研究課題名（英文）Elucidation and overcoming the drug tolerant mechanism in RET-altered 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） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：RET異常がん細胞株の中でもRETチロシンキナーゼ阻害剤（TKI）に対し低感受性の細胞株では、RET-TKIの曝露によってHER3及び下流のERKシグナルが活性化していた。さらにRET-TKI低感受性株では転写因子YAPが細胞内で高発現であり、HER3やリガンドNRG1の転写に寄与していた。このことから、YAP-HER3軸はYAP高発現RET異常がんにおけるRET-TKIに対する治療抵抗性や細胞生存に極めて重要な役割を果たしていることが示唆され、YAP/HER3阻害とRET-TKIの併用が初期治療に非常に有効であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

分子標的治療薬は特定の遺伝・分子プロファイルを有する腫瘍において、高い治療効果を示すことが知られているが、奏効が得られない患者も存在する。初期治療抵抗性の機序の解明・克服は、分子標的治療におけるより深い奏効を可能とし、生存予後の改善も期待できるため、多くの研究が進められている。本研究では、RET異常がんにおけるRETチロシンキナーゼ阻害剤（TKI）によって誘導される治療抵抗性として、YAP-HER3軸を見出し、治療標的となることを初めて明らかにした。臨床応用されればRETがん患者の予後を改善させる事が期待出来るが、安全性・有効性のさらなる検証が必要である。

研究成果の概要（英文）：Among the RET-aberrant cancer cells, HER3 and downstream ERK signaling were activated by RET-TKI exposure in the low-sensitive cell lines to RET tyrosine kinase inhibitors (TKIs). Furthermore, intracellular YAP was highly expressed in RET-TKI low-sensitivity cells, and the Hippo signaling pathway, in which the transcription factor YAP plays an important role in HER3 activation. These results suggested that YAP-HER3 axis plays pivotal roles for cell survival under an exposure with RET-TKIs in the adaptive resistance to RET-TKIs and the emergence of tolerant cells by RET-TKIs in YAP expressed RET-aberrant cancer, suggesting that YAP/HER3 inhibition and RET-TKIs is a highly potent combination for initial treatment.

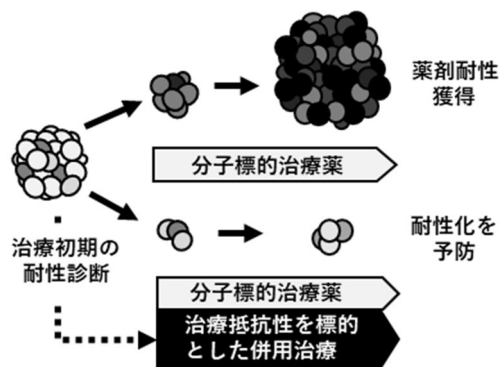
研究分野：呼吸器内科

キーワード：RET HER3 YAP RET-TKI 治療抵抗性

1. 研究開始当初の背景

ドライバー遺伝子異常に起因する肺癌に対し分子標的治療薬の開発が進み、進行期であっても薬物治療によって長期生存が得られるようになってきた。一方で治療によっても完治に至ることは稀であり、残存した腫瘍が薬剤耐性を獲得することで腫瘍の再増殖・再発に至るため、耐性克服が次なる課題となる。しかしながら耐性機序は多岐にわたり、有効な治療の開発については困難を極めているのが現状である。

分子標的治療薬による治療初期に治療抵抗性細胞が生存することで、不可逆的な耐性獲得に至ることが近年明らかになっている。EGFR 遺伝子変異やALK 融合遺伝子などの代表的な肺癌のドライバー遺伝子異常については、治療抵抗性や耐性獲得について様々な研究成果が発表されている (Katayama Y, et al. NPJ Precis Oncol. 2023;7(1):12./ Tanimura K, et al. NPJ Precis Oncol. 2022;6(1):5.)。治療抵抗性細胞が治療下でも生存できるメカニズムとして、バイパスシグナルの活性化、細胞内代謝の変化など様々な機序が解明されており、腫瘍の不均一性によって一部の治療抵抗細胞が治療下に生存することで早期の再発、薬剤耐性化ドライバー遺伝子異常への標的治療と並行して耐性機序に対する治療介入を行うことで、耐性獲得を防ぐことが期待できる (右図)。



2. 研究の目的

肺腺がんのおよそ 1-2% で同定される RET 融合遺伝子を有する肺癌患者に対し、RET チロシンキナーゼ阻害薬 (RET-TKI) である selpercatinib と pralsetinib は全奏効率が 70% 以上に達するという非常に良好な治療成績を示しているが、他の分子標的治療薬と同様に初期の治療抵抗性や耐性獲得の問題を抱えている。

本研究は RET 遺伝子異常を有するがん (以下 RET 異常がん) における RET-TKI に対する初期治療抵抗性機序の解明及び克服治療法を見出すことを目的として計画した。

3. 研究の方法

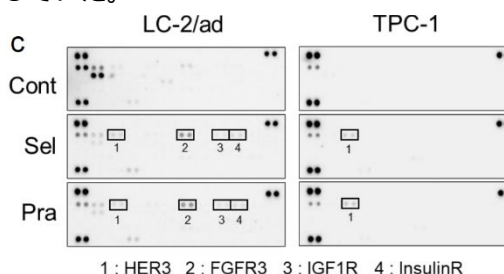
RET 異常がん細胞: LC-2/ad (CCDC6-RET 融合肺腺がん) TPC-1 (CCDC6-RET 融合甲状腺乳頭がん) TT (RET C634W 変異甲状腺髄様がん) EHMES10 (NCOA4-RET 融合中皮腫) を用い、RET-TKI 処理前後で網羅的蛋白リン酸化発現解析によって細胞内シグナルの変化を解析し、治療抵抗性に関わるフィードバック機構について in vitro 及び in vivo 実験で検討した。

4. 研究成果

(1) HER3 シグナルを介した ERK 再活性化が RET-TKI に対する適応抵抗性を誘導する

RET 異常がん細胞株の RET-TKI に対する感受性を評価したところ、低感受性株: LC-2/ad と TPC-1、高感受性株: EHMES10 と TT に分かれた。低感受性株は RET-TKI 曝露後 4 時間の時点では RET 及びその下流分子 ERK のリン酸化が共に抑制されていたが、48 時間の時点では RET は抑制されたままであったが、ERK が再活性化していた。

ERK の再活性化の機序を調べるため、RET-TKI で 72 時間処理した LC-2/ad と TPC-1 における 49 個のリン酸化 RTK の発現を比較した。結果、HER3、IGF1-R、Insulin R、FGFR3 を含む複数の分子のリン酸化が薬剤処理後に増加していた。

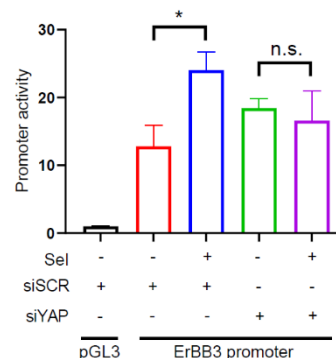


この中で、HER3 の特異的ノックダウンを RET-TKI と併用することで、ERK の再活性化が抑制され、細胞生存が有意に抑制されたことから、HER3 の活性化が治療抵抗性に関与していることが示唆された。

(2) RET-TKI によって YAP が活性化されることで HER3 の転写が促進される

RET-TKI 低感受性 2 株を用いて、RET-TKI 使用前後のトランスクリプトームプロファイルと比較した。RNA-seq の結果、LC-2/ad 細胞では 3,924 個、TPC-1 細胞では 754 個の遺伝子 (FDR p-value<0.05) がアップレギュレートされ、RET-TKI の介入後には、転写共因子の TEAD1・TEAD4 を含めた 366 個の遺伝子が両細胞で共通してアップレギュレートされることが判明した。さらに、Gene Ontology 生物学的プロセスから、Hippo シグナル伝達経路の制御に関連する遺伝子群の活性化が示唆される結果が得られた。Hippo シグナル伝達経路における重要な転写関連因子である YAP/TEAD は、HER3 を初めとする分子の発現にも関与していることが知られており、その関連性について検討した。

RET-TKI 処理後の細胞では Hippo シグナル伝達経路の主要分子の発現が低下しており、YAP の核内転位が観察された。さらに ChIP-qPCR を用いた検討によって、HER3 プロモーター領域への YAP の結合が示されたことから、RET-TKI によって Hippo シグナル伝達経路が抑制されることで YAP が活性化し、HER3 の転写が促進される機序が明らかになった。

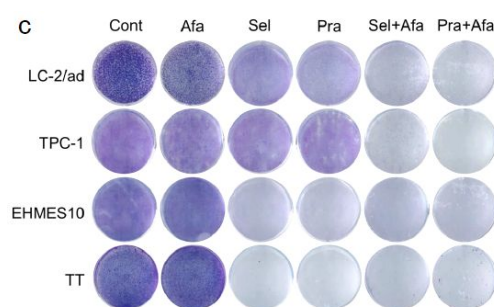


(3) YAP は HER3 を活性化させることで RET 異常がんにおける治療抵抗性を促進する

RET-TKI 低感受性株に対する YAP のノックダウンによって、RET-TKI によって誘導される HER3-ERK の活性化が阻害され RET-TKI に対する感受性が回復したが、RET-TKI 高感受性株ではこれらの現象は観察されなかった。RET-TKI 高感受性株では YAP の発現量が低く、YAP を過剰発現させることで、HER3 の発現量が増加し、RET-TKI に対する感受性が低下した。これらの結果から、YAP を介した HER3-ERK の活性化が治療抵抗性における要になることが示唆された。

(4) pan-ERBB 阻害薬は YAP 高発現 RET 異常がん細胞における治療抵抗性を阻止する

Pan-ERBB 阻害薬アファチニブを RET-TKI と併用することで、YAP 高発現細胞株 (LC-2/ad、TPC-1) では細胞増殖阻害効果を有意に増強したが、YAP 低発現細胞株 (EHMES10、TT) ではわずかな効果にとどまった。この治療効果の増強は、細胞内 ERK リン酸化の強力な抑制や細胞周期における G1 停止の増加、さらにアポトーシス細胞数の増加によって説明されるものであった。さらに、RET-TKI 治療下で生存する治療抵抗性細胞は HER3 発現が亢進し RET-TKI への感受性が低下していたが、アファチニブによって HER3-ERK シグナルが抑制された。



また、in vivo における検討でも同様に、RET-TKI とアファチニブの併用治療で HER3 や ERK の発現が抑制され、RET-TKI による抗腫瘍効果を増強することが示された。

これらの結果から、YAP 高発現の RET 異常がんにおいて、RET-TKI によって YAP を介した HER3 シグナル活性化が誘導される事で治療抵抗性を示すが、pan-ERBB 阻害薬アファチニブとの併用治療によって克服しうることが明らかとなった。

(現在論文投稿中)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 片山勇輝 |
| 2. 発表標題 ドライバー遺伝子異常肺がんにおける治療抵抗性機構の解明と治療法開発 |
| 3. 学会等名 第64回日本呼吸器学会学術講演会 |
| 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 |
|---------|---------|
|---------|---------|