

主 論 文 要 旨

論文提出者氏名：

水上 拓郎

専攻分野：早期探索的研究者育成コース

コース：

指導教授：伊東 文生

主論文の題目：

EGFR and HER2 Signals Play a Salvage Role in *MEK1*-mutated Gastric Cancer After MEK Inhibition (EGFR および HER2 シグナルは MEK1 遺伝子変異陽性胃癌の MEK 阻害剤への耐性に寄与する)

共著者：

Yosuke Togashi, Shunsuke Sogabe, Eri Banno, Masato Terashima, Marco A de Velasco, Kazuko Sakai, Yoshihiko Fujita, Shuta Tomida, Takako Eguchi Nakajima, Narikazu Boku, Kazuto Nishio

緒言：

切除不能・再発胃癌の予後は不良である。これまでに、分子標的薬として HER2 (human epidermal growth factor receptor 2)陽性胃癌に対するトラスツズマブおよび血管新生阻害剤であるラムシルマブが切除不能・再発胃癌に対して有効性を示してきたが、その耐性機序の解明は、新規治療標的の探索と共に未だ重要な課題である。これまでに我々は、胃癌細胞株において MEK1 遺伝子変異が activating mutation として腫瘍原生に関わり、MEK1 遺伝子変異陽性胃癌細胞株が MEK 阻害剤に感受性を示すことを報告した (Mol Cancer Ther 13 (12): 3098-3106, 2014)。近年、膀胱癌や肺癌などで MEK 阻害剤への耐性機序として、ErbB ファミリー受容体の活性化の寄与が報告されている。そこで、今回我々は胃癌における MEK 阻害剤に対する耐性機序の解明、および

その耐性の克服について MEK1 遺伝子変異陽性胃癌細胞株を用いて検討を行った。

方法・対象

MEK1 遺伝子変異を持つ胃未分化型腺癌細胞株として OCUM-1 細胞株、MEK 阻害剤として、MEK1/2 阻害剤であるトラメチニブ (GSK1120212)、EGFR/HER2 阻害剤であるラパチニブを用いて実験を行った。OCUM-1 の網羅的なチロシンキナーゼ受容体 (RTK) のチロシン残基のリン酸化の検出は、ヒト RTK リン酸化抗体アレイ (R&D systems) を用いて行い、ウエスタンブロット法を用いて RTK を含む細胞内シグナル伝達の活性を評価・検証した。統計学的検定は t 検定を用いた。

結果

OCUM-1 に 1 nM トラメチニブを添加した後、ヒト RTK リン酸化抗体アレイで網羅的な RTK のリン酸化を評価した。コントロールと比較して、MEK 阻害後に OCUM-1 における EGFR および HER2 のリン酸化の相対的亢進を認めた。同様に、ウエスタンブロット法で MEK 阻害後に EGFR および HER2 のリン酸化の経時的な亢進の増強を認めた。RT-PCR 法を用いて、ErbB ファミリー受容体およびその主要なリガンド (AREG、EGF、HB-EGF、NRG1、TGFA、EGFR、HER2、HER3、HER4) の mRNA レベルの発現を評価したが、有意な変化を認めなかった。

EGFR および HER2 シグナルの MEK 阻害に対する耐性への寄与を検証するため、ヒトリコンビナント EGF をリガンドとして用いてトラメチニブの OCUM-1 に対する増殖抑制実験を行った。10 ng/ml EGF 添加により、OCUM-1 のトラメチニブに対する感受性は有意に低下し ($P=0.033$)、ウエスタンブロット法で EGFR および HER2 のリン酸化を介して ERK 依存的に耐性を示していることが明らかとなった。さらに、10 μ m ラパチニブを添加することにより EGF により誘導された耐性は解除されることを増殖抑制実験およびウエスタンブロット法で示した。これらの結果より、EGFR および HER2 シグナルが OCUM-1

における MEK 阻害への耐性に寄与し、さらにラパチニブがその耐性を解除できる可能性が示された。

MEK 阻害後の OCUM-1 における EGFR および HER2 の活性化による耐性の克服について検討するため、OCUM-1 におけるトラメチニブ、ラパチニブの単剤および併用効果を増殖抑制実験で評価した。トラメチニブとラパチニブの併用は、相乗的に増殖抑制効果を示した。ウエスタンブロット法では、ラパチニブは MEK 阻害により活性化した EGFR および HER2 を抑制し、ERK 依存的に相乗効果を示すことが明らかになった。また、トラメチニブとラパチニブの併用はトラメチニブ単剤に比べ細胞死を誘導した。

考察

MAPK (Mitogen-activated Protein Kinase)経路を標的とする分子標的薬の耐性機序として、MAPK 経路に含まれるキナーゼの再活性化や MEK 遺伝子変異、RAS や RAF の増加などが報告されている。近年、BRAF 阻害剤または MEK 阻害剤への耐性機序として、ErbB ファミリー受容体の活性化が寄与することが報告された。本研究は、MEK1 遺伝子変異胃癌細胞株において、MEK 阻害に対する耐性に EGFR および HER2 の再活性化が同様に寄与することを示した初めての報告である。

結論

EGFR および HER2 シグナルは MEK1 遺伝子変異陽性胃癌の MEK 阻害剤への耐性に寄与する。さらにトラメチニブとラパチニブを併用することで更なる治療効果を示すことができる可能性があり、本研究は MEK1 遺伝子変異陽性胃癌に対する今後の治療戦略に寄与するものである。