

厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）
委託業務成果報告書（業務項目）

ALK, RET, ROS1 融合遺伝子陽性肺癌の分子標的薬に対する耐性化機序の解明に関わる研究開発

担当責任者 西尾誠人 がん研有明病院呼吸器センター呼吸器内科 部長

研究要旨

liquid biopsy による ALK, RET, ROS1 等の融合遺伝子の検出とチロシンキナーゼ阻害剤に対する新規耐性機序の解明を目的として ALK, RET, ROS1 融合遺伝子陽性肺癌の分子標的薬に対する耐性化機序の解明に関わる研究を開始した。耐性化症例の初代継代培養細胞株のゲノム解析に着手した。耐性症例での二次的変異解析のために EGFR 遺伝子変異陽性非小細胞肺癌を対象にした EGFR-TKI 獲得耐性後の検体収集ならびに ALK 融合遺伝子陽性肺癌患者の検体収集を倫理委員会承認の下、開始した。

A．研究目的

本研究では、liquid biopsy による遺伝子診断、すなわち liquid sequencing を実施する。第 1 の目標は、liquid biopsy による ALK, RET, ROS1 等の融合遺伝子の検出とチロシンキナーゼ阻害剤に対する新規耐性機序の解明である。また、血漿・血清検体からの EGFR チロシンキナーゼ阻害剤の二次的耐性変異である T790M 検出による耐性モニタリングである。

B．研究方法

ALK 融合遺伝子陽性肺癌患者で ALK 阻害剤耐性化した症例の腫瘍片より初代継代培養細胞株を樹立する。同細胞を用い次世代シーケンサー等によりゲノム解析を開始する。耐性症例での二次的変異解析のための研究計画の倫理委員会での承認を得て、検体の集積を開始する。

（倫理面への配慮）

臨床サンプルの収集に当たっては、倫理委員会の承認を得、同意を文書で得て実施した。

C．研究結果

ALK, RET, ROS1 融合遺伝子陽性肺癌の分子標的薬に対する耐性化機序の解明に関わる研究開発：耐性化症例の初代継代培養細胞株でのゲノム解析に着手した。耐性症例での二次的変異解析のための研究計画を倫理委員会へ申請し承認を得た。耐性化症例の初代継代培養細胞株のゲノム解析を次世代シーケンサー等によるエクソーム解析等を開始した。耐性症例での二次的変異解析のための検体の集積を開始した。

D．考察

Liquid biopsy に供する採血について、EDTA 入り採血管を用いることが重要であると知れた。ま

た、抽出される核酸が 2ml 血漿から抽出することが適切と考えられた。今後の収集過程では、上記条件での収集を実施する。

E．結論

Liquid biopsy による EGFR-TKI 獲得耐性遺伝子変異モニタリングに関わる研究開発、血中融合遺伝子の検出法の確立と liquid biopsy 検体を用いた feasibility 研究、Liquid biopsy による EGFR-TKI 獲得耐性遺伝子変異モニタリングに関わる研究開発のいずれにおいても倫理委員会承認のもと、測定施設と共同で、臨床サンプルの収集・保管が順調に開始された。測定の為のアッセイ系の確立、cut-off 値の決定も行われ、一部測定が開始されている。

F．研究発表

（発表誌名巻号・頁・発行年等も記入）

1. 論文発表

1. Friboulet L, Li N, Katayama R, Lee CC, Gainor JF, Crystal AS, Michellys PY, Awad MM, Yanagitani N, Kim S, Pferdekammer AC, Li J, Kasibhatla S, Sun F, Sun X, Hua S, McNamara P, Mahmood S, Lockerman EL, Fujita N, Nishio M, Harris JL, Shaw AT, Engelman JA. The ALK inhibitor ceritinib overcomes crizotinib resistance in non-small cell lung cancer. *Cancer discovery*, 4(6): 662-73, 2014.

2. 学会発表

1. Nakagawa K, Seto T, Satouchi M, Nishio M, Hotta K, Murakami H, Ohe Y, Takeda K, Tatsuno M, Yoshikawa N, Tanaka T, Tamura T. Antitumor activity of alectinib (CH5424802/RO5424802) for

ALK-rearranged NSCLC with or without prior crizotinib treatment in bioequivalence study. 2014 ASCO Annual Meeting. J Clin Oncol 32:5s, 2014 (suppl; abstr 8103). 2014; General Poster Session, Lung Cancer - Non-Small Cell Metastatic.

2. Justin F. Gainor LF, Katayama R, Awad MM, Lockerman EL, Schultz K, Mahmood S, Nishio M, Yanagitani N, Sequist LV, Mino-Kenudson M, Engelman JA, Shaw AT. Evolution of resistance in ALK-positive patients treated with ALK tyrosine kinase inhibitors (TKIs). 2014 ASCO Annual Meeting J Clin Oncol 32:5s, 2014 (suppl; abstr 8031). 2014; Poster Highlights Session, Lung Cancer - Non-small Cell Metastatic.

H . 知的財産等の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし