

【目的】 肺がんは最も死亡者が多いがん種である。肺腺がんのうち日本人の 50%、欧米人の 20%に EGFR 遺伝子変異があり、このタイプには EGFR チロシンキナーゼ阻害剤、特に第 3 世代オシメルチニブが著効する。しかし、一度効いても約 1~2 年後に必ず耐性となり再増悪してしまうことが問題である。本研究は、CRISPR-Cas9 ゲノム編集技術を活用して、薬剤耐性としての点変異・融合遺伝子・遺伝子増幅を持つモデルを作製することによってその機序解明と耐性の克服を目指す。

【方法】 EGFR 活性型変異 (exon 19 の欠失変異) のある肺腺がん細胞株 PC-9 から、CRISPR-Cas9 ゲノム編集技術を活用して、内因性の *KRAS* 変異、*BRAF* 変異、*CCDC6 - RET* や *ESYT2 - BRAF* などの融合遺伝子をもつモデルを作製した。それぞれのモデルで薬剤感受性試験を行った。*KRAS* 変異に関しては、スプライシングを評価した。融合遺伝子については、有効な併用療法で治療を続けた後のさらなる耐性機序も解析した。

【結果】 4 種類の *KRAS* 変異を持つモデルのうち G12C、G12D、A146T の 3 種類の変異は期待通り EGFR 阻害剤に対して耐性となったが、*KRAS* Q61K だけは予想外に薬剤耐性を起こさなかった。詳細な解析により、*KRAS* Q61K が薬剤耐性を引き起こすには隣のコドン G60 にアミノ酸が変化しないサイレント変異を伴うことが必須であり、その機序としてスプライシングが関わっていることを明らかにした。*CCDC6 - RET* 融合遺伝子と *ESYT2 - BRAF* 融合遺伝子を作製したモデルは EGFR 阻害剤に耐性となった。RET 阻害剤と EGFR 阻害剤の併用、MEK 阻害剤と EGFR 阻害剤の併用によってこれらの融合遺伝子による耐性を克服できることを見出した。さらに、これらの併用療法で長期間治療を続けると *CCDC6 - RET* の遺伝子増幅と *ESYT2 - BRAF* の遺伝子増幅、*YAP1* の遺伝子増幅、*EGFR* 野生型の遺伝子増幅など様々な遺伝子増幅が起こった。これらのことから、PC-9 モデルは薬剤耐性としての遺伝子増幅を起こしやすい特性を持っていると考えられた。その素因を明らかにするために、超低継代全ゲノムシーケンス (ULP-WGS) でゲノム上のどの領域に遺伝子増幅が起こったかを明らかにしながら、原因遺伝子の同定を継続中である。

EGFR 変異肺がんの主な薬剤耐性機序とその克服

