

【背景】 肺癌は日本人のがん死亡原因の第1位を占める。小細胞肺癌は、肺癌の中でも悪性度が高く、進行癌として発見されることが多く、化学療法が治療の主体となる。近年、非小細胞肺癌においては分子標的治療が発展し、EGFR 遺伝子変異や ALK 融合遺伝子などのドライバー遺伝子変異が発見され、それらをターゲットとした治療は既存の化学療法に対して優れた治療成績を示した。しかし、小細胞肺癌における分子標的治療は確立されていない。mTOR 阻害薬は、国内において腎細胞癌、膵内神経分泌腫瘍および乳癌に対し保険適応が承認されており、優れた抗腫瘍効果を示す。小細胞肺癌においても、mTOR は約 50%に過剰発現が認められると報告されており、mTOR 阻害薬は小細胞肺癌においても有望な治療である可能性が示唆される。しかしながら、海外における第 II 相試験において、mTOR 阻害剤は再発小細胞肺癌患者に対する認容性が報告されたが、その治療成績は限定的なものであった。そのため、小細胞肺癌に対する mTOR 阻害剤の感受性因子の同定と耐性化の解明が望まれている。

【目的】 小細胞肺癌に対する mTOR 阻害薬の抗腫瘍効果、治療標的因子及び耐性化機序について検討する。

【方法】 7 種類の小細胞肺癌細胞株 (SBC5、H69、PC6、MS1、SBC3、Lu139、N231) を用いて、mTOR 阻害薬 3 種類 (Temsirolimus, Everolimus, Rapamycin) に対する抗腫瘍効果を MTS assay にて評価し、IC<sub>50</sub> により感受性株と耐性株に分類した。Everolimus 感受性株を用いて、Everolimus 低濃度持続暴露により耐性株を作成し、DNA マイクロアレイとリン酸化抗体アレイにより耐性株における遺伝子発現及びキナーゼ変化を評価した。

### 【結果】

7 種類の小細胞肺癌細胞株のうち、SBC5 のみ 3 種類の mTOR 阻害薬に感受性を示し、感受性株と分類した。PI3K/AKT/mTOR シグナルのタンパク発現解析をウェスタンブロット法にて検討したところ、全ての細胞株において mTOR の高発現が認められた。H69 を除く 5 種類の耐性株では、p-eIF4E の高発現が認められた。

mTOR 阻害剤感受性株 SBC5 に対する Everolimus 低濃度持続暴露により、2 か月後に、2 種類の Everolimus 耐性株 (SBC5 R1、SBC5 R10) を樹立した。DNA マイクロアレイによる遺伝子発現解析にて、両耐性株において SBC5 親株と比較して MYC と SPP1 の有意な発現上昇を認めた。リン酸化キナーゼアレイによる解析においては、両耐性株で p-EGFR の発現上昇が認められた。耐性株における MYC, SPP1, p-EGFR のタンパク発現上昇はウェスタンブロット法により確認した。MYC に対する FISH 解析においては、両耐性株における MYC 増幅は認められなかった。

Everolimus 耐性株における PI3K/AKT/mTOR シグナルのタンパク発現解析において、両耐性株において p-eIF4E の発現上昇が認められた。5 種類の耐性株および SBC5 R1、

SBC5 R10 の p-eIF4E 発現上昇における MYC の関与を検討するため、siMYC を用いた検討において、SBC5 R1 において MYC 抑制により eIF4E の発現低下が得られた。

SBC5 R1 と SBC5 R10 に対し、siRNA による eIF4E 抑制後の Everolimus 感受性を MTS assay にて評価したところ、両耐性株について、Everolimus に対する感受性の回復が得られた。また、siRNA による MYC 抑制後の Everolimus 感受性を MTS assay にて評価したところ、両耐性株について、Everolimus 感受性回復が認められた。

以上の結果により、小細胞肺癌細胞株における Everolimus 耐性化には、p-eIF4E 発現上昇が関与しており、MYC 過剰発現によるバイパス経路を介する p-eIF4E 活性化がその機序として考えられた。

#### 【結語】

小細胞肺癌において、Everolimus に対する耐性化機序として MYC を介する PI3K/AKT/mTOR シグナル非依存的な eIF4E 活性化が重要な働きをしていることを明らかにした。小細胞肺癌に対する MYC-eIF4E の制御は、mTOR 阻害薬治療の新規治療標的になり得る。