

論文内容の要旨

Exosome-derived miR-210 involved in resistance to osimertinib and epithelial-mesenchymal transition in EGFR-mutant non-small cell lung cancer cells

エクソソーム由来の microRNA-210 は EGFR 変異陽性非小細胞肺癌株における
オシメルチニブ耐性化および上皮間葉移行に関与する

日本医科大学大学院医学研究科 呼吸器内科学分野
大学院生 久金 翔

Thoracic Cancer 2021 年 掲載予定

【背景】

EGFR 変異陽性非小細胞肺癌 (EGFR-mutant NSCLC) に対して、上皮成長因子受容体チロシンキナーゼ阻害薬 (EGFR-TKI) は有効な治療効果を示すが、薬剤耐性とその克服が大きな課題となっている。上皮間葉移行 (EMT) は EGFR-TKI の薬剤耐性に関与することが知られている。近年、細胞外小胞の一種であるエクソソームに内包された核酸やタンパク質が、悪性腫瘍における薬剤耐性や EMT に関与することが明らかになってきている。

【目的】

EGFR-TKI 薬剤耐性に関与するエクソソーム由来 microRNA (miRNA) を明らかにすることを目的とした。

【方法】

EGFR-mutant NSCLC 細胞株 HCC827、PC-9 を用いてステップワイズ法にて、第 3 世代 EGFR-TKI であるオシメルチニブ耐性株 (HCC827-OR、PC-9-OR) を樹立した。EMT および EGFR シグナル伝達経路に関わるタンパク発現をウエスタンブロット法で評価した。HCC827 および HCC827-OR、PC-9 および PC-9-OR をそれぞれ共培養し、EMT を細胞形態およびウエスタンブロット法で評価した。各細胞株細胞上清から高速遠心法を用いてエクソソームを分離し、エクソソームに内包される RNA を抽出した。miRNA マイクロアレイ解析を用いて、オシメルチニブ耐性および EMT に関わる miRNA を検索した。

【結果】

オシメルチニブ耐性株は感受性株と比較して、p-EGFR 発現低下、p-AKT 発現上昇、E-cadherin 発現低下、vimentin 発現上昇を認め、EGFR シグナルに関与しない EMT が耐性化に関与していることが示された。耐性株と共培養させた感受性株では、間葉系細胞増加、E-cadherin 発現低下と vimentin 発現上昇を認め、EMT が誘導されていることを認めた。マイクロアレイ解析にて、感受性株由来のエクソソームと比較して耐性株由来のエクソソームにて共通に発現が上昇していた miRNA の中から、EMT に関与する miR-210-3p を同定した。耐性株における miR-210-3p 発現上昇は、定量的 RT-PCR 法においても確認した。HCC827-OR 由来エクソソームを HCC827 の細胞培養液に投与すると、間葉系細胞増加、E-cadherin 発現低下および vimentin 発現上昇がみられ、オシメルチニブへの薬剤感受性が低下した。さらに、HCC827 に miR-210-3p を過剰発現させると、EGFR シグナル伝達経路に関わるタンパク発現には影響を及ぼさなかったが、間葉系細胞が増加し、TGF- β 刺激に関わらず E-cadherin 発現低下と vimentin 発現上昇がみられ、オシメルチニブへの薬剤感受性が低下した。

【考察】

本研究において、オシメルチニブ耐性株由来エクソソームに含まれる miR-210-3p が EMT と EGFR-TKI 耐性を促進することを明らかにした。

エクソソームは細胞間情報伝達の重要な担い手である。近年、EMT や薬剤耐性に関わるエクソソーム含有 miRNA が複数同定されており、第 1 世代 EGFR-TKI 耐性化に関与する miRNA も報告されているが、第 3 世代 EGFR-TKI においてはこれまで報告がない。

miR-210 は主に腫瘍促進型 miRNA として作用し、複数の癌腫にて EMT や薬剤耐性に関与することが報告されている。乳癌においては、miR-210 が E-cadherin を標的とする可能性が示唆されており、本研究結果を支持するものであった。本研究において、miR-210-

3p は、EMT 誘導因子 TGF- β と独立し、さらに EGFR シグナル伝達経路に依存しないバイパス経路を介して、オシメルチニブ耐性化に関わっている可能性が示唆された。

【結論】

エクソソーム由来 miR-210-3p は、EGFR-mutant NSCLC の腫瘍微小環境において、オシメルチニブの耐性化および EMT に寄与しており、重要な新規治療標的である。