

【背景】

上皮成長因子受容体チロシンキナーゼ阻害薬(epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitors : EGFR-TKIs)は、EGFR 遺伝子変異陽性非小細胞肺癌(non-small cell lung cancer : NSCLC)に対して劇的な治療効果を示す。しかしながら、EGFR 遺伝子 2 次変異やバイパス経路の活性化などの獲得耐性克服が臨床上の課題である。近年、長鎖ノンコーディング RNA(long non-coding RNA : lncRNA)が癌の発生や進展に重要な役割を果たすことが示唆されているが、EGFR 遺伝子変異陽性肺癌における薬剤耐性と lncRNA の生物学的意義は十分に解明されていない。

【目的】

本研究は、EGFR 遺伝子陽性 NSCLC における EGFR-TKI 耐性に関与する lncRNA を同定し、新規治療戦略開発を目指すことを目的とする。

【方法】

EGFR 遺伝子変異陽性肺癌細胞株 PC-9 および HCC827 を用いて、ステップワイズ法にて、第 2 世代 EGFR-TKI アファチニブと第 3 世代 EGFR-TKI オシメルチニブに対する耐性株を樹立した(PC-9-AR、PC-9-OR、HCC827-AR、HCC827-OR)。親株 2 種類と耐性株 4 種類および自然耐性株 2 種類(H1650、H1975)を用いて non-coding and coding RNA microarray 解析を施行し、医工連携によるバイオインフォマティクスにより薬剤耐性に関わる候補 lncRNA を同定した。候補 lncRNA の発現解析、相互作用因子の同定、機能解析を行った。

【結果】

EGFR 遺伝子 2 次変異は 4 種類の耐性株には認めなかった。ウェスタンブロットによるタンパク発現解析において、耐性株にてリン酸化 EGFR が低下していたが、AKT/mTOR 経路が活性化しており、EGFR シグナル非依存性の耐性機構が関わっていることが示唆された。マイクロアレイ解析にて、EGFR-TKIs 耐性に共通に関わる候補 lncRNA として、Colorectal neoplasia differentially expressed (CRNDE)と DiGeorge syndrome critical region gene 5 (DGCR5)を同定し、real-time RT-PCR による発現解析により耐性株にて発現が上昇していることを確認した。医工連携による RNA-protein binding analysis により、CRNDE と DGCR5 に共通する相互作用タンパク質として eukaryotic translation initiation factor 4A3 (eIF4A3)を同定し、耐性株にて下流経路に存在する mucin 1 (MUC1)、リン酸化 EGFR の発現が低下していることを明らかにした。HCC827-OR において siRNA を用いて CRNDE を抑制すると、eIF4A3/MUC1/EGFR 経路が活性化し、cleaved PARP 上昇および annexin V陽性細胞増加が観察され、アポトーシス活性が亢進することが示された。HCC827-AR、HCC827-OR においては CRNDE の抑制により、EGFR-TKIs (アファチニブとオシメルチニブ) に対する感受性が回復することを確認した。

【結論】

lncRNA CRNDE が eIF4A3/MUC1/EGFR 経路を制御し、EGFR-TKI 耐性に関与していることを明らかにした。CRNDE は、EGFR 遺伝子変異陽性 NSCLC の薬剤耐性克服の新規治療標的になりえる。