

## 第二次審査（論文公開審査）結果の要旨

### Long non-coding RNA CRNDE is involved in resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitor in *EGFR*-mutant lung cancer via eIF4A3/MUC1/EGFR signaling

*EGFR* 遺伝子変異陽性肺癌における EGFR-TKI 耐性に関与する長鎖ノンコーディング RNA CRNDE

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 高橋 聡

International Journal of Molecular Sciences, volume13, number 22(8), 2021 掲載  
DOI: 10.3390/ijms22084005

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 inhibitor : EGFR-TKI) 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。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した。

*EGFR* 遺伝子変異陽性肺癌細胞株 PC-9 と HCC827 を用いて、ステップワイズ法にて、第 2/3 世代 EGFR-TKI アファチニブとオシメルチニブに対する薬剤耐性細胞株を樹立した (PC-9-AR、PC-9-OR、HCC827-AR、HCC827-OR)。親株 2 種類と耐性細胞株 4 種類および自然耐性細胞株 2 種類 (H1650、H1975) を用いて、lncRNA マイクロアレイ解析を施行した。医工連携によるバイオインフォマティクスにて、薬剤耐性に関与する候補 lncRNA を同定し、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。

*EGFR* 遺伝子 2 次変異は 4 種類の獲得耐性細胞株には認めなかった。ウエスタンブロットによるタンパク発現解析にて、獲得耐性細胞株はリン酸化 EGFR が低下していたが、AKT/mTOR 経路が活性化しており、EGFR 経路非依存性耐性機構が関与していることが示唆された。マイクロアレイ解析にて、EGFR-TKI 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、定量的 RT-PCR 法において、耐性細胞株での発現上昇を確認した。

医工連携による RNA-タンパク質結合解析により、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) を同定した。耐性細胞株においては下流経路の mucin 1(MUC1) およびリン酸化 EGFR 発現の低下を認めた。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 抑制にて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。以上の結果から、lncRNA CRNDE が eIF4A3/MUC1/EGFR 経路を制御し、*EGFR* 遺伝子変異陽性 NSCLC 細胞の 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 EGFR-TKI 耐性克服の新規治療標的としての可能性が示された。

第二次審査では、既知の EGFR 獲得耐性機序、CRNDE の他の EGFR-TKI 耐性との関係、耐性細胞株の EGFR 発現の結果の解釈、DGCR5 抑制による薬剤感受性回復、MUC1 の EGFR-TKI 耐性への関与、などに関する幅広い質疑が行われ、いずれも的確な回答が得られた。本研究は、*EGFR* 遺伝子変異陽性肺癌に対する新規治療法開発への可能性など今後の臨床応用が期待される意義ある論文と考えられた。

以上より、本論文は学位論文として価値あるものと認定した。