

## 第二次審査（論文公開審査）結果の要旨

Phosphoproteomic analysis identified mutual phosphorylation of FAK and Src as a mechanism of osimertinib resistance in *EGFR*-mutant lung cancer

リン酸化プロテオミクス解析による *EGFR* 変異肺癌におけるオシメルチニブ耐性メカニズムとしての FAK と Src のリン酸化の同定

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 戸塚 猛大

JTO Clinical and Research Reports. 2024 April;5(4):100668.掲載

DOI:<https://doi.org/10.1016/j.jtocrr.2024.100668>

*EGFR* 遺伝子変異などのドライバー遺伝子を標的とする分子標的薬の登場により、非小細胞肺癌 (non-small cell lung cancer: NSCLC) の予後は大きく改善した。*EGFR* 遺伝子変異陽性 NSCLC において、*EGFR* チロシンキナーゼ阻害薬 (*EGFR*-TKI) であるオシメルチニブは標準治療薬となったが、オシメルチニブに対する耐性克服が臨床上の課題である。申請者は、リン酸化プロテオミクス解析を用いて、*EGFR* 遺伝子変異陽性 NSCLC におけるオシメルチニブ耐性機序の解明および新規治療標的の同定を目的に研究を行った。

*EGFR* 遺伝子変異陽性肺腺癌細胞株 (PC-9、HCC827) と、それらのオシメルチニブ耐性株 (PC-9 OR、HCC827OR) を使用した。高感度質量分析を用いて、親株と耐性株のリン酸化プロテオミクスプロファイルを比較した。上流のキナーゼは、Kinase Enrichment Analysis 3 (KEA3) を用いて推定した。リン酸化プロテオミクス解析および上流キナーゼ解析に基づき同定された治療標的について、siRNA (small interfering RNA) や特異的阻害薬を用いた機能解析を施行した。さらに、オシメルチニブ耐性化前後の *EGFR* 遺伝子変異陽性 NSCLC 患者の腫瘍組織を用いた免疫染色解析を実施した。

高感度質量分析により約 17,000 のタンパク質リン酸化部位を網羅的に解析し、2 種類の耐性株で発現が上昇した 80 のタンパク質リン酸化部位を同定した。KEA3 により、FAK (focal adhesion kinase) と Src (proto-oncogene tyrosine-protein kinase Src) が、これらのリン酸化タンパク質の上流キナーゼとして推定された。耐性株において、FAK siRNA 処理により Src のリン酸化が低下するとともに、Src siRNA 処理により FAK のリン酸化が低下し、FAK と Src が相互にリン酸化されることが示唆された。FAK および Src の siRNA 処理により、耐性株の *EGFR* リン酸化も上昇した。FAK と Src の阻害薬併用は、*in vitro* において高い細胞増殖抑制効果を示した。耐性株において、Src siRNA 処理により FAK 阻害薬の効果、および FAK siRNA 処理により Src 阻害薬の効果が高まった。synergy score を算出し、FAK と Src の阻害薬の併用効果が相乗的であることが推察された。PC-9 OR を用いた異種移植マウスモデルでは、FAK と Src の阻害薬併用により腫瘍増殖が有意に抑制された。*EGFR* 遺伝子変異陽性 NSCLC 患者腫瘍組織の免疫染色においては、7 例中 2 例でオシメルチニブ耐性後に FAK と Src のリン酸化が上昇していた。以上より、リン酸化プロテオミクス解析は肺癌の分子標的薬の耐性機序解明に役立つ有用な手法であり、FAK と Src の相互リン酸化がオシメルチニブ耐性化に関与することを明らかにした。FAK と Src の阻害薬の併用は相乗効果があり、*EGFR*-TKI 耐性後の有望な治療法になり得ると考えられる。

第二次審査では、耐性株における遺伝子変異や増幅の有無、FAK と Src のリン酸化のメカニズム、臨床検体を用いたリン酸化プロテオミクス解析の可能性、FAK と Src 阻害薬の開発状況、今後の臨床応用等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、FAK と Src の相互リン酸化がオシメルチニブ耐性に寄与することを示し、FAK と Src の阻害薬併用が *EGFR*-TKI 耐性に対する有望な新規治療法となり得ることを明らかにした臨床的に有用な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。