

## 第二次審査（論文公開審査）結果の要旨

Induction of resistance to neurotrophic tropomyosin-receptor kinase inhibitors by HMGCS2 via a mevalonate pathway

HMGCS2によるメバロン酸経路を介した NTRK 阻害薬に対する耐性化誘導

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 加藤 泰裕

Cancer Medicine, 2024 掲載予定

Neurotrophic tyrosine receptor kinase (NTRK) は、神経細胞の分化維持に関わる遺伝子で、ETV6 や TPM3 などの遺伝子と融合して癌化を誘導するドライバー遺伝子の 1 つである。NTRK 融合遺伝子陽性悪性腫瘍に対して、NTRK チロシンキナーゼ阻害薬 (NTRK-TKI) であるエヌトレクチニブ、ラロトレクチニブが本邦で承認され、良好な治療効果が示された。しかしながら、NTRK-TKI 耐性化とその克服が今後の課題となっている。本研究において、申請者は、NTRK-TKI 耐性機序解明と新規治療戦略を探索することを目的に研究を行った。

TPM3-NTRK1 融合遺伝子を有する大腸癌細胞株 KM12 を用いて、3 種類の NTRK-TKI (ラロトレクチニブ、エントレクチニブ、セリトレクチニブ) に対する耐性細胞株 (KM12-LR、KM12-ER、KM12-SR) を樹立した。KM12 と 3 種類の耐性細胞株を用いて、全エクソーム解析と網羅的遺伝子発現解析を行い、耐性化因子の同定を行った。

全エクソーム解析にて、KM12-LR において、既知の耐性変異 Gly595Arg が同定されたが、新規の二次耐性変異は認めなかった。網羅的遺伝子発現解析では、3 つの耐性細胞株に共通して HMGCS2 発現が高く、定量的 RT-PCR とウエスタンブロット法にて高発現を確認した。HMGCS2 下流シグナルのタンパク発現解析においては、メバロン酸経路の PPAR $\alpha$ 、SREBP2 が耐性細胞株において発現が低下していた。耐性細胞株に対する siRNA を用いた HMGCS2 抑制にて、KM12-ER、KM12-SR では NTRK-TKI 感受性が有意に回復し、3 つの耐性株に共通してアポトーシス活性が亢進した。一方で、耐性細胞株における HMGCS2 抑制後のメバロン酸処理にて、NTRK-TKI に対する耐性化が誘導され、アポトーシス活性が再低下することが示された。HMG-CoA レダクターゼであるシンバスタチンと HMGCS2 発現阻害作用を有するシリビニンを用いて、3 つの耐性株にて薬剤感受性試験を施行した。NTRK-TKI とシンバスタチンまたはシリビニン併用にて、KM12-ER および KM12-SR にて相乗的な増殖抑制効果が示され、3 つの耐性株で共通してアポトーシス活性が亢進することを確認した。さらに、KM12 を皮下移植したマウスゼノグラフトモデルでは、エントレクチニブ投与にて、腫瘍の増殖抑制と腫瘍内の HMGCS2 高発現を確認した。KM12-ER を用いたマウスモデルにても、NTRK-TKI とシンバスタチンとの併用にて、有意な腫瘍増殖抑制効果を認めた。

以上より、HMGCS2 高発現によるメバロン酸経路を介した NTRK-TKI の耐性機序を明らかにし、既存の脂質異常症治療薬であるスタチン系薬剤が耐性克服に有用である可能性を示した。

第二次審査では、KM12 細胞以外での検討、臨床検体における HMGCS2 発現、他の癌腫での検討、スタチン系薬剤の違いによる効果、NTRK-TKI とスタチン系薬剤の最適な投与方法、今後の臨床応用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、メバロン酸経路を介した HMGCS2 が NTRK-TKI の耐性化に寄与し、スタチン系薬剤が NTRK 融合遺伝子陽性悪性腫瘍に対する有望な新規治療薬になり得ることを明らかにした臨床的に有用な意義の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。