

氏名	荻野 敦子
授与した学位	博士
専攻分野の名称	医学
学位授与番号	博甲第 3701 号
学位授与の日付	平成 20 年 6 月 30 日
学位授与の要件	医歯学総合研究科病態制御科学専攻 (学位規則第 4 条第 1 項該当)
学位論文題目	Emergence of Epidermal Growth Factor Receptor T790M Mutation during Chronic Exposure to Gefitinib in a Non-Small Cell Lung Cancer Cell Line (ゲフィチニブに長期間暴露したヒト非小細胞肺癌株における上皮成長因子受容体 (EGFR) 遺伝子の T790M 変異の出現)
論文審査委員	教授 清水 憲二 教授 田中 紀章 准教授 土井原博義

### 学位論文内容の要旨

ヒト肺非小細胞癌細胞株 PC-9 は、上皮成長因子受容体 (EGFR) 遺伝子のエクソン 19 に 15 塩基の欠失を有し、ゲフィチニブに高い感受性を有する。PC-9 をゲフィチニブ存在下で長期間継代し、ゲフィチニブ耐性株 RPC-9 を樹立し、耐性メカニズムの検討を行った。耐性株 RPC-9 のゲフィチニブに対する 50%抑制濃度は $\sim 8 \mu\text{M}$ であり、親株 PC-9 と比較し約  $4 \times 10^2$  倍もの耐性を獲得し、ゲフィチニブを除いてもその耐性度は維持された。耐性株 RPC-9 は親株 PC-9 と異なり、 $1 \mu\text{M}$  のゲフィチニブ下では Erk1/2、Akt のリン酸化は抑制されなかった。RT-PCR 法を用いた解析では、耐性株 RPC-9 において活性変異型 EGFR の約半分に、T790M の変異がみとめられた。また、耐性株 RPC-9 に活性変異型 EGFR 遺伝子を導入すると、ゲフィチニブに対する感受性が回復した。以上より、耐性株 RPC-9 においては、活性変異型 EGFR と、T790M 変異を有する EGFR の発現レベルのバランスが、ゲフィチニブへの反応性を規定している可能性が示唆された。

### 論文審査結果の要旨

本研究は Gefitinib に感受性であるヒト肺非小細胞癌細胞株 PC-9 を用いて、Gefitinib 濃度漸増プロトコールによる選択で Gefitinib 耐性株 RPC-9 を分離し、その耐性機構の解析を行なったものである。RPC-9 は親株 PC-9 に比べて約 400 倍の Gefitinib 耐性を示し、Gefitinib を除いてもその耐性は維持された。他の抗癌剤、シスプラチンに対しては 1.8 倍の耐性しか示さなかった。細胞内 Gefitinib 濃度の確認など他の可能性を除外したあと、この細胞株の EGFR 遺伝子の配列を解析した結果、親株にあつて Gefitinib 感受性の主因となった第 19 エクソン内 15 bp の欠失に加え、第 20 エクソンに Thr  $\rightarrow$  Met の変異 (T790M) が新しく起こっていることが判明した。さらに、この変異は活性化型変異を持つ 2 本の染色体のうち 1 本に生じていること、この耐性株に活性化型変異を持つ EGFR 遺伝子を導入すると、Gefitinib に対する感受性が回復すること等を明らかにした。以上の結果により、耐性株 RPC-9 においては、活性変異型 EGFR と、T790M 変異を有する EGFR の発現レベルのバランスが、Gefitinib に対する反応性を規定している可能性が示唆された。

以上のように、本研究は肺癌の化学療法で大きな意義を持つ Gefitinib の耐性機構の解明とその克服法の開発に向けて、大きな貢献が期待されるもので、意義ある研究成果と認めた。

よって、本研究者は博士 (医学) の学位を得る資格があると認める。