



報道機関 各位

2022年10月13日  
国立大学法人信州大学

## 甲状腺がんが、がん分子標的治療薬に抵抗性を獲得する機構の一部を解明

### 【研究成果のポイント】

病状が進行した甲状腺がんや、すでに他の臓器に転移を起こした甲状腺がんには、がんの増殖の原因に関わる特定の分子を選んで攻撃するがん分子標的治療薬剤であるレンバチニブ（多標的チロシンキナーゼ阻害薬のひとつ）が多く用いられています。しかし、甲状腺がんがレンバチニブに抵抗性をもつことがあり、その機構の解明は進んでいませんでした。

今回の研究で、甲状腺がんのレンバチニブ抵抗性に、上皮成長因子受容体<sup>※</sup>（epidermal growth factor receptor, EGFR）を介したシグナル伝達の活性化が関与していることを甲状腺がんでは初めて示しました。

※：細胞の増殖や成長を制御する上皮成長因子を認識し、シグナル伝達を行う受容体

### 【概要】

甲状腺がんは内分泌系悪性腫瘍の中で最も多いがんであるが、有効な薬物療法は少なく進行再発甲状腺がんに対しては、がん分子標的治療薬レンバチニブが広く用いられてきました。しかし、レンバチニブに対して治療の最初から抵抗性を示すがんや、治療中に効果がなくなる耐性を獲得するがんもあり、より有効な治療戦略の開発のためにはレンバチニブ耐性機構の解明が必要です。そこで、信州大学医学部外科学教室 乳腺内分泌外科学分野では、培養甲状腺がん細胞株を用いて、レンバチニブ耐性の分子生物学的機構の解析を行いました。

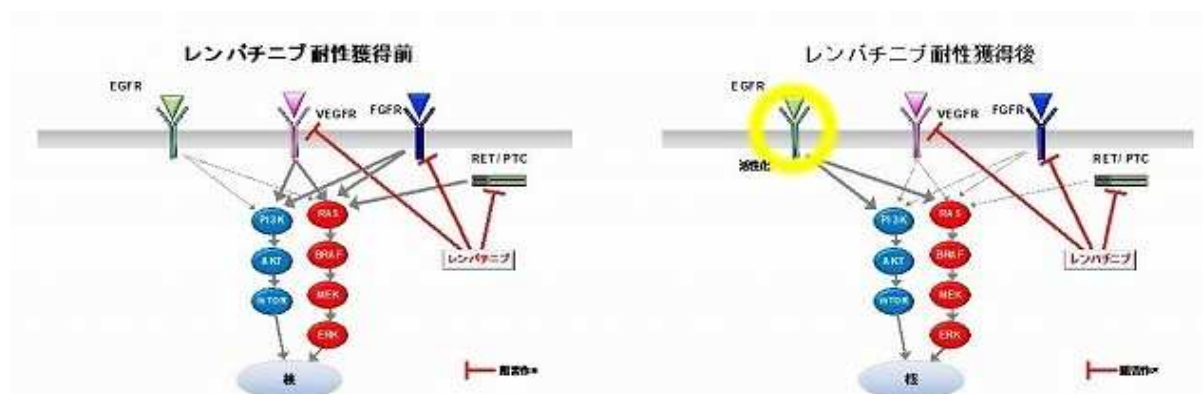
甲状腺がん細胞株（TPC-1、FRO）を用いてレンバチニブ耐性株（TPC-1/LR、FRO/LR）を樹立したところ、TPC-1/LRではEGFR、細胞外シグナル制御キナーゼ（extracellular signal-regulated kinase, ERK）、Aktのリン酸化の著明な亢進が認められました。そこで、耐性を獲得する前のTPC-1とFROの親株に上皮成長因子（epidermal growth factor, EGF）を投与してEGFR経路を活性化すると、レンバチニブ感受性の低下が誘導されました。一方、EGFRのリン酸化が亢進しているTPC-1/LRに、レンバチニブと同時にEGFR阻害剤ラパチニブを投与すると、増殖抑制効果の増強が認められました。

次に、ヌードマウスにレンバチニブ耐性のTPC-1/LR細胞を移植したマウス異種移植モデルで、レンバチニブにラパチニブを併用して投与を行うと、レンバチニブ単剤投与に比べ有意な腫瘍増殖抑制効果が認められました。

さらに、レンバチニブの甲状腺がん細胞のシグナル伝達に対する作用を、6種類の甲状腺がん細胞株で解析したところ、レンバチニブの投与により、それぞれの甲状腺がん細胞の組織型やドライバー遺伝子変異の違いに関わらず、全ての甲状腺がん細胞株でEGFRリン酸化の増強が観察されました。しかし一方で、下流のシグナル伝達分子であるERKやAktのリン酸化には細胞株間で違いが認められました。

ラパチニブ併用によるEGFRの阻害作用により、レンバチニブの細胞増殖を抑制する効果が増強されることを検証するために、これらの6種の細胞株に両剤を同時に投与すると、もともとレンバチニブ感受性が低い3つの細胞株で、レンバチニブとラパチニブによる増殖抑制効果の相乗的増強が認められました。

レンバチニブは、主に血管内皮増殖因子受容体(vascular endothelial growth factor receptor 1-3, VEGFR1-3)や線維芽細胞増殖因子受容体(fibroblast growth factor receptor 1-4, FGFR1-4)、Rearranged during transfection (*RET*)遺伝子の働きを強力に阻害することで抗腫瘍効果を示しますが、今回の研究結果から、甲状腺がん細胞ではレンバチニブ投与により、レンバチニブの標的分子ではないチロシンキナーゼ受容体(tyrosine kinase receptor, TKR)であるEGFRを介したシグナル伝達の活性化が誘導されることが、甲状腺がん細胞のレンバチニブ耐性の一因になっている可能性が示され、EGFR阻害剤の併用によるこの経路の阻害が、甲状腺がん細胞のレンバチニブ感受性を高め、耐性を克服するための新たな治療戦略になる可能性が示されました(図1)。



(図1)

### 【背景】

甲状腺がんは、濾胞上皮細胞から発生する分化型甲状腺がんと未分化がん、傍濾胞細胞から発生してくる髄様がんの大別されます。未分化がんは甲状腺がんの約2%を占めるに過ぎないですが生命予後は極めて不良です。一方、甲状腺がんの約90%は分化型甲状腺がん、これには乳頭がんと濾胞がんが含まれます。分化型甲状腺がんに対する標準的治療は手術と放射性ヨウ素治療で、10年疾患特異的生存率は90%以上と良好ですが、一部のがんは放射性ヨウ素に抵抗性を示し、他の臓器に遠隔転移を起こすと10年生存率は50%以下に低下します。

甲状腺がんでは、*BRAF*、*RAS*、*RET/PTC*などのドライバー遺伝子変異が比較的高頻度に認められますが、これらの遺伝子変異の有無に関わらず、FGFR、VEGFRや血小板由

来成長因子受容体(platelet-derived growth factor receptor, PDGFR)などのチロシンキナーゼ受容体の下流の分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ(mitogen-activated protein kinase, MAPK)シグナル伝達経路の活性化が認められるため、放射性ヨウ素抵抗性になった分化型がんに対して、多標的チロシンキナーゼ阻害剤(multi-tyrosine kinase inhibitors, MKI)が使用されてきました。レンバチニブは、VEGFR1-3、FGFR1-4、PDGFR、RETなどを標的とする経口 MKI で、放射性ヨウ素治療抵抗性の進行再発分化型がんを対象とした第3相試験で無増悪生存期間を延長したことから、これまで広く用いられてきました。

しかし、最初からレンバチニブに抵抗性を示すがんがあることや、治療中の耐性の出現が臨床での重要な課題となっており、これを克服するためには、レンバチニブ感受性を予測するバイオマーカーの同定や、甲状腺がん細胞がレンバチニブに耐性を獲得する分子機構の解明が切望されていました。

## 【研究手法】

### レンバチニブ耐性細胞株の樹立

甲状腺がん培養細胞株 TPC-1 (*RET/PTC* 変異あり) と FRO (*BRAFV600E* 変異あり) をレンバチニブ存在下で長期間培養し、耐性株 TPC-1/LR (親株比 140 倍耐性) と FRO/LR (親株比 5.3 倍耐性) を樹立し、解析を行いました。

### 細胞内シグナル伝達経路の変化の解析

甲状腺がん細胞がレンバチニブ耐性を獲得することで、その細胞内のシグナル伝達がどのように変化しているか、Western blotting (WB)法を用いてシグナル伝達分子のタンパク発現やリン酸化を解析しました。

### 薬剤感受性の解析

レンバチニブ単剤、EGF 存在化、およびラパチニブとの併用での甲状腺がん細胞株の増殖阻害効果は、water-soluble tetrazolium salt-based proliferation assay (WST 法)で解析しました。

### 動物モデルでの薬剤の抗腫瘍効果の解析

レンバチニブ耐性株(TPC-1/LR)をヌードマウスの皮下に移植して、担がんモデルを作成し、レンバチニブ単剤とラパチニブ併用での抗腫瘍効果を解析しました。また、腫瘍組織を採取して、WB 法と免疫組織染色で解析を行いました。

## 【波及効果・今後の予定】

レンバチニブは進行した甲状腺がんに対して世界中で広く用いられてきましたが、この薬剤に耐性になった後の有効な治療戦略は確立しておりません。今回の研究結果から、レンバチニブと EGFR 阻害剤の併用がレンバチニブの効果を増強することが示され、進行甲状腺がんに対する新たな治療戦略となる可能性が示されました。

すでに *BRAFV600E* 変異陽性の甲状腺未分化がんに対しては、がん分子標的治療薬である BRAF 阻害剤と MEK 阻害剤の併用療法が海外では臨床応用されていますが、複数のがん分子標的治療薬を併用してがん細胞の増殖に重要なシグナル伝達経路を阻害する治療戦略は、他にも幾つかの悪性腫瘍で臨床応用されています。今回の研究結

果からも、今後の悪性腫瘍の治療戦略の中でがん分子標的治療薬の併用療法が大きな位置を占めることが予測されます。

今後は、レンバチニブが甲状腺がん細胞でEGFRの活性化を誘導する分子生物学的機構を解析するのと並行して、他の耐性機構の解析を行う予定です。

### 【論文タイトルと著者】

タイトル: Epidermal growth factor receptor activation confers resistance to lenvatinib in thyroid cancer cells

(上皮成長因子受容体の活性化が甲状腺がん細胞にレンバチニブ耐性をもたらす)

著者: 大野晃一、柴田智博、伊藤研一

掲載誌: Cancer Science

発表日: 2022年6月20日

DOI: 10.1111/cas.15465.

### 【問い合わせ先】

#### 〈研究内容に関する問い合わせ先〉

信州大学医学部 外科学教室 乳腺内分泌外科学分野 伊藤研一

E-mail: kenito@shinshu-u.ac.jp

Tel: 0263-37-2657 Fax: 0263-37-2721

#### 〈報道に関する問い合わせ先〉

国立大学法人信州大学 総務部総務課広報室

Tel: 0263-37-3056 Fax: 0263-37-2188