

平成 27 年度 学内研究助成金 研究報告書

研 究 種 目	■奨励研究助成金	□研究成果刊行助成金
	□21 世紀研究開発奨励金 (共同研究助成金)	□21 世紀教育開発奨励金 (教育推進研究助成金)
研 究 課 題 名	大腸癌における MEK 阻害薬耐性獲得機序の解明と分子標的薬による克服法の開発	
研究者所属・氏名	研究代表者：椿 正寛 共同研究者：	

1. 研究目的・内容

大腸癌では約 50%に KRAS あるいは BRAF に変異が存在し、これら変異によるタンパク活性化により、癌が進展することが知られている。近年、これらタンパクの下流因子である MEK の分子標的薬が開発され、大腸癌の予後改善が示されているものの、MEK 阻害薬に対する耐性出現が問題となっている。本研究では大腸癌における MEK 阻害薬耐性機序の解明を目的し、検討を行った。

2. 研究経過及び成果

1. MEK 阻害薬耐性細胞株の検索

各種大腸癌細胞株を用いて、MEK 阻害薬耐性を示す細胞株を検索した。方法としては Muse Cell analyzer を用いた Cell count and viability assay 及び trypan blue dye 法を用いた。その結果、KRAS 変異あるいは BRAF 変異を有する細胞株において、MEK 阻害薬耐性を示す細胞を取得した。

2. MEK 阻害薬耐性因子の検討

MEK 阻害薬感受性大腸癌細胞株と耐性細胞株のシグナル伝達因子を比較検討することで、MEK 阻害薬耐性因子の検索を試みた。方法としては、western blotting にてタンパク発現及び活性化を検討した。その結果、MEK 阻害薬耐性細胞において、感受性細胞と比較し、数種類のシグナル伝達因子が活性化していることが認められた。このことから、MEK 阻害薬耐性には、これら数種のシグナル伝達因子の活性化が関与する可能性が考えられた。

3. MEK 阻害薬耐性に関与する因子の同定及びシグナル伝達阻害薬による耐性克服効果

同定したシグナル伝達経路阻害薬を用いることで、MEK 阻害薬耐性が克服されるか検討した。方法としては、MEK 阻害薬単独投与時、シグナル伝達阻害薬単独添加時、MEK 阻害薬＋シグナル伝達阻害薬併用時における細胞生存率を評価することで、耐性克服効果を検討した。その結果、シグナル伝達阻害薬を併用することで、MEK 阻害薬耐性を克服することが認められた。

4. MEK 阻害薬耐性株の樹立

MEK 阻害薬に感受性を示す大腸癌細胞株を用いて、MEK 阻害薬耐性株の樹立を行った。その結果、感受性株に細胞死を誘導する濃度の約 100 倍 MEK 阻害薬に対して耐性を示す細胞株を樹立した。

以上の結果から、MEK 阻害薬耐性には数種のシグナル伝達因子の活性化が重要であり、これらシグナルを阻害することが耐性克服に有用であることが認められた。樹立した耐性株においては今後、上記シグナル伝達因子の活性化が関与するか検討を行っていく予定である。

3. 本研究と関連した今後の研究計画

樹立した耐性株における MEK 阻害薬耐性機構については検討を行えていない。そのため、今後は、樹立した耐性株における耐性機構を解明を目指す。方法としては遺伝子発現やシグナル伝達因子活性化の網羅的解析を行い、因子を同定後、その阻害薬などを用いて耐性機構の全解明及び克服の治療法を見出す。

4. 成果の発表等

発 表 機 関 名	種類 (著書・雑誌・口頭)	発表年月日(予定を含む)
第 65 回日本薬学会近畿支部総会・大会	ポスター発表	2015 年 10 月 17 日