

## 論文内容の要旨

A Novel Molecular Target in *EGFR*-Mutant Lung Cancer Treated with  
the Combination of Osimertinib and Pemetrexed

*EGFR* 遺伝子変異陽性肺癌におけるオシメルチニブとペメトレキセド  
併用療法の新規分子標的の検討

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 高野 夏希

Anticancer Research 2022年 掲載予定

## 【背景】

第3世代上皮成長因子受容体チロシンキナーゼ阻害薬 (EGFR-TKI) オシメルチニブは、*EGFR* 遺伝子変異陽性非小細胞肺癌 (NSCLC) に対して劇的な治療効果を示すが、薬剤耐性の克服が大きな課題となっている。これまでに、EGFR-TKI と細胞障害性抗癌薬の併用効果の有用性が報告されているが、分子メカニズムおよび併用療法の耐性機序は明らかになっておらず、*EGFR* 遺伝子変異陽性肺癌治療に向けた新規治療戦略構築が望まれている。

## 【目的】

*EGFR* 遺伝子変異陽性 NSCLC 細胞におけるオシメルチニブとペメトレキセドの併用効果の分子メカニズムを解明し、根治に向けた新規治療標的を探索する。

## 【方法】

*EGFR* 遺伝子変異陽性 NSCLC 細胞株 PC-9 および H1975 を用いて、オシメルチニブ単剤またはペメトレキセド併用における抗腫瘍効果を評価した。これらの細胞において、DNA マイクロアレイを用いてオシメルチニブとペメトレキセド曝露後の遺伝子発現を網羅的に評価した。オシメルチニブ単剤もしくはオシメルチニブとペメトレキセドの併用療法の耐性細胞株を樹立し、耐性メカニズムを探索した。

## 【結果】

PC-9 および H1975 細胞におけるオシメルチニブとペメトレキセド併用療法は、オシメルチニブ単剤と比較して、有意な細胞増殖抑制およびアポトーシス活性増大とともに、オシメルチニブ耐性の出現を遅延させた。PC-9 異種移植マウスを用いた検討においても、併用療法は有意な腫瘍増殖抑制効果を認めた。網羅的遺伝子発現解析においては、併用療法にて抗アポトーシス遺伝子 polo-like kinase 1 (PLK1) の発現が有意に低下していることが示され、定量的 RT-PCR およびウエスタンブロットにて PLK1 発現低下を確認した。PC-9 異種移植マウスにおいても、併用療法における PLK1 発現低下を免疫染色にて確認した。PC-9 および H1975 細胞における siRNA を用いた PLK1 抑制にて、アポトーシス活性増大を認めた。

PC-9 細胞を用いてオシメルチニブ単剤およびオシメルチニブとペメトレキセド併用の耐性細胞株 (PC-9Osir、PC-9OsipEMR) を樹立した。両耐性細胞においては、リン酸化 EGFR 発現低下とともに PLK1 の過剰発現を認め、EGFR シグナルに依存しない耐性機序として PLK1 の関与が示唆された。オシメルチニブとペメトレキセド治療後の *EGFR* 変異 NSCLC 患者組織においても、オシメルチニブとペメトレキセド治療後、PLK1 発現の有意な減少を認めた。さらに、PC-9Osir と PC-9OsipEMR における siRNA による PLK1 抑制または PLK1 阻害薬ボラセルチブ投与にて、細胞増殖抑制とともにアポトーシス活性の誘導を認めた。

## 【考察】

本研究にて、*EGFR* 遺伝子変異陽性 NSCLC 細胞において、オシメルチニブとペメトレキセドの併用療法が単剤療法と比較してアポトーシス活性を誘導することで抗腫瘍効果を高めることおよび PLK1 が重要な因子であることを明らかにした。さらに、PLK1 はオシメルチニブおよび併用療法における耐性機序にも関与していることが示された。

PLK1 は細胞周期調節に関与し、発現抑制により有糸分裂が阻害されアポトーシスを誘導することが報告されている。PLK1 過剰発現は腫瘍増殖促進に関与し、頭頸部癌、卵巣癌、前立腺癌、乳癌および NSCLC などの悪性腫瘍にて高発現し、予後不良因子として報告されている。本研究結果を踏まえて、PLK1 は、*EGFR* 遺伝子変異陽性 NSCLC における薬剤耐

性克服および根治に向けた重要な治療標的である可能性が示唆される。

**【結論】**

PLK1 は、*EGFR* 遺伝子変異陽性 NSCLC 細胞におけるオシメルチニブ+ペメトレキセドの相乗的な抗腫瘍効果に寄与している。PLK1 過剰発現は、オシメルチニブ+ペメトレキセド併用療法の耐性にも関与し、PLK1 阻害薬は *EGFR* 遺伝子変異陽性 NSCLC の根治に向けた新規治療薬に成り得る可能性がある。