

## 第二次審査（論文公開審査）結果の要旨

### 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 安野（高野）夏希

Anticancer Research, volume 42, number 2, 2022 掲載

DOI: <https://doi.org/10.21873/anticanres.15529>

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* 遺伝子変異陽性肺癌に対して劇的な治療効果を示すが、薬剤耐性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。今回、*EGFR* 遺伝子変異陽性肺癌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、新規治療標的を探索することを目的に研究を行った。

*EGFR* 遺伝子変異陽性肺癌細胞株 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、オシメルチニブとペメトレキセド投与前後に変化する遺伝子発現を DNA マイクロアレイにて網羅的に解析した。さらに、オシメルチニブ単剤またはオシメルチニブとペメトレキセド併用に対する耐性細胞株を樹立し、耐性メカニズムを探索した。

PC-9 と H1975 細胞におけるオシメルチニブとペメトレキセド併用は、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出現を遅延させた。網羅的遺伝子発現解析においては、2剤併用にて抗アポトーシス遺伝子である polo-like kinase 1 (PLK1) の発現が有意に低下しており、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 と H1975 細胞における siRNA を用いた PLK1 抑制にて、アポトーシス活性の増加を認めた。PC-9 異種移植マウスを用いた検討においても、2剤併用は有意な腫瘍増殖抑制効果と PLK1 発現の低下を認めた。

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 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。EGFR 遺伝子変異肺癌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に PLK1 発現の有意な減少を認めた。さらに、PC-9OsiR と PC-9OsiPEMR に対する 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上昇を認めた。

以上より、EGFR 遺伝子変異陽性肺癌細胞において、オシメルチニブとペメトレキセドの 2 剤併用がオシメルチニブ単剤と比較して、アポトーシス活性を増強することにて抗腫瘍効果を高めること、および PLK1 が併用効果における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 2 剤併用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、EGFR 遺伝子変異陽性肺癌患者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た。

第二次審査では、アポトーシスに関するデータの解釈、PC-9 と H1975 細胞で耐性化遅延時期が異なることの解釈、耐性細胞にて PLK1 阻害薬の細胞増殖抑制が弱い理由、PLK1 以外の耐性メカニズム、PLK1 阻害薬の臨床応用の可能性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、EGFR 遺伝子変異陽性肺癌患者の新規治療法開発への可能性などの今後の臨床応用が期待される意義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。