

論文内容の要旨

Afatinib plus PEM and CBDCA overcome osimertinib-resistance in *EGFR*-mutated NSCLC with high thrombospondin-1 expression

オシメルチニブ耐性 thrombospondin-1 高発現 EGFR 遺伝子変異変異陽性非小細胞肺癌に対するアファチニブ+ペメトレキセド+カルボプラチン併用療法の有効性

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 恩田 直美

Cancer Science, 2024 掲載予定

【背景】

EGFR 遺伝子変異陽性非小細胞肺癌 (NSCLC) に対して、第3世代 *EGFR*-TKI であるオシメルチニブは著効するが、薬剤耐性が生じる。耐性メカニズムは多様であるが、耐性後の治療は確立していない。第I相試験において、1次治療で *EGFR*-TKI 耐性後のアファチニブ(*afatinib*) + ペメトレキセド(*PEM*) + カルボプラチン(*CBDCA*) 併用療法の有効性と安全性が確認され、第II相試験が施行中である。本研究にて、オシメルチニブ耐性メカニズムと耐性後の *afatinib*+*PEM*+*CBDCA* 併用療法の有効性に関して *in vitro* および *in vivo* にて検討した。

【方法】

2つの *EGFR* 遺伝子変異陽性細胞株(*PC-9*, *H1975*)を用いて実験を行った。high exposure, stepwise method 法を用いて、オシメルチニブ耐性株 (*PC-9-OR*, *H1975-OR*) を樹立した。耐性株に対して、*afatinib*+*PEM*+*CBDCA* 併用の薬剤感受性を cell viability assay を用いて評価した。次世代シーケンサーと DNA アレイを用いた遺伝子発現解析を行い、耐性に関わる候補遺伝子を同定し、タンパク発現解析などの機能解析を行った。*PC-9-OR* 異種移植マウスモデルを用いた動物実験においても3剤併用の有効性を確認した。

【結果】

PC-9-OR、*H1975-OR* は、全エクソーム解析において、既知のオシメルチニブの耐性機序である *C797S* などの新規の二次耐性変異は認めなかった。cell viability assay において、*afatinib*+*PEM*+*CBDCA* 併用は、*afatinib* 単剤や *PEM*+*CBDCA* 併用に比べて、親株およびオシメルチニブ耐性細胞株のいずれにおいても有意な細胞増殖抑制を認めた。DNA マイクロアレイ解析にて、thrombospondin-1 (*TSP-1*) 発現が耐性細胞にて有意に上昇していることを見出し、定量的 RT-PCR 法とウェスタンブロット法において *TSP-1* 高発現を確認した。*TSP-1* は、インテグリンシグナルを介して *MMP2/9* の発現を増加し、*PC-9-OR* と *H1975-OR* における腫瘍浸潤促進および *H1975-OR* での上皮間葉移行 (epithelial-mesenchymal transition: *EMT*) に関与していることが示された。さらに、*afatinib*+*PEM*+*CBDCA* 併用は、*TSP-1* 誘導性の浸潤能抑制と耐性細胞の *EMT* の解除を示した。*PC-9-OR* 異種移植マウスモデルにおいても、*afatinib*+*PEM*+*CBDCA* 併用は、*afatinib* 単剤や *PEM*+*CBDCA* 併用に比べて、腫瘍増殖を強力に抑制した。

【結論】

EGFR 変異 NSCLC において、*TSP-1* 発現上昇がオシメルチニブ耐性に関与し、*TSP-1* 発現を有意に抑制する *afatinib*+*PEM*+*CBDCA* 併用は、耐性克服に向けての有望な選択肢となる可能性がある。