

## 第二次審査（論文公開審査）結果の要旨

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

アフアチニブ+ペメトレキセド+カルボプラチンは Thrombospondin-1 高発現の  
*EGFR* 変異陽性非小細胞肺癌においてオシメルチニブ耐性を克服する

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 Aug;115(8):2718-2728.掲載

DOI: 10.1111/cas.16199

*EGFR* 遺伝子変異陽性非小細胞肺癌に対して、オシメルチニブは第3世代 *EGFR* チロシンキナーゼ阻害薬 (*EGFR*-TKI) として優れた効果を示すが、薬剤耐性が生じることが大きい課題となっている。耐性メカニズムは多様であり、耐性後の標準治療は確立されていない。国内第I/II相試験において、オシメルチニブ耐性後の治療として、アファチニブ+ペメトレキセド (PEM)+カルボプラチン(CBDCA) 併用療法が有効であることが報告されている。申請者は、本研究にてオシメルチニブ耐性メカニズムおよびアファチニブ+PEM+CBDCA 併用療法の有効性について検討を行った。

*EGFR* 遺伝子変異陽性肺腺癌細胞株 (PC-9、H1975) からオシメルチニブ耐性株 (PC-9 OR、H1975 OR) を樹立し、これらの耐性株に対してアファチニブ+PEM+CBDCA の薬剤感受性を cell viability assay にて評価した。全エクソーム解析およびDNA マイクロアレイを用いて遺伝子変異と発現解析を行い、耐性に関与する候補遺伝子を同定し、タンパク質発現の機能解析も施行した。さらに、PC-9-OR 異種移植マウスモデルを用いて3剤併用の有効性を評価した。

全エクソーム解析では、PC-9-OR および H1975-OR 細胞株において、二次耐性変異は確認されなかった。cell viability assay の結果、アファチニブ+PEM+CBDCA 併用は、アファチニブ単剤や PEM+CBDCA 併用と比較して、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効果を示した。DNA マイクロアレイ解析により、thrombospondin-1 (TSP-1) 発現が2つの耐性細胞株で有意に上昇しており、定量的 RT-PCR およびウェスタンブロットでも確認された。

TSP-1 は、インテグリンシグナルを介して MMP2/9 発現を上昇させ、PC-9-OR と H1975-OR 細胞株における腫瘍浸潤促進や、H1975-OR 細胞株の上皮間葉移行 (epithelial-mesenchymal transition: EMT) に関与していることが示唆された。さらに、アファチニブ+PEM+CBDCA 併用は、TSP-1 による浸潤能を抑制し、耐性細胞の EMT を解除した。PC-9-OR 異種移植マウスモデルにおいても、アファチニブ+PEM+CBDCA 併用は、アファチニブ単剤や PEM+CBDCA 併用と比較して有意に腫瘍縮小を認めた。

以上の結果から、*EGFR* 変異陽性 NSCLC において、TSP-1 の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アファチニブ+PEM+CBDCA 併用は、耐性克服に向けた有望な治療選択法となる可能性が示された。

第二次審査では、TSP-1 抑制によるオシメルチニブ耐性解除に関する検討、TSP-1 と *EGFR*、TGF- $\beta$  シグナルとの関係、肺癌以外の癌種における TSP-1 に関する報告、臨床検体を用いた TSP-1 発現解析、TSP-1 を標的とした新規治療法の可能性などに関して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、TSP-1 の発現上昇がオシメルチニブ耐性に寄与することを明らかにし、アファチニブ+PEM+CBDCA 併用療法が *EGFR*-TKI 耐性に対する有望な新規治療法となる可能性を示した臨床的に有用な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。