

論文内容要旨

論文題目

肺扁平上皮がんを対象とした LUX-Lung 8 試験の二次解析で検出された *HER2/HER4* 遺伝子変異に対する afatinib の効果を検証した in vitro 研究

責任講座：外科学第二講座

氏名：濱田 顕

【内容要旨】 (1,200 字以内)

EGFR・*ALK*・*ROS1* など治療標的となる遺伝子異常の発見とその標的薬の開発により、肺がんの治療成績は向上した。一方、次世代シーケンサを用いた遺伝子解析が広く用いられるようになり、既知の遺伝子異常だけでなく、臨床的意義が不明な遺伝子変異 (variants of unknown significance: VUS) も多数同定されるようになり、これら VUS の機能解析が求められている。

LUX-Lung 8 試験 (Soria ら、Lancet Oncol 2015) は、ⅢB/Ⅳ期の肺扁平上皮がん患者を対象とし、EGFR チロシンキナーゼ阻害剤 (EGFR-TKI) である afatinib と erlotinib を比較した第Ⅲ相試験である。その二次解析 (Goss ら、JAMA Oncol 2018) において、10 種類の *HER2* 遺伝子の VUS (Q57R、G152A、S250C、E265K、E395K、P489L、R683L、G815R、R929W、P1037L) と 13 種類の *HER4* 遺伝子の VUS (R220I、G668V、V673F、T731M、D767V、I815N、E890Q、D931Y、V952F、I959T、E1011*、G1096I、I1226V) が報告され、これらの患者で afatinib が有用である可能性が示唆された。しかし、これらの VUS の腫瘍原生や薬剤感受性は評価されておらず、本研究において機能解析を行うこととした。

23 種類の *HER2/HER4* 遺伝子の VUS を IL-3 依存性細胞株である、マウス pro-B 細胞株 (Ba/F3 細胞) にレトロウイルスを用いて導入し、これらの VUS を有する in vitro モデルを作成した。これらの *HER2/HER4* 遺伝子の VUS の腫瘍原性を、IL-3 除去下での増殖能を検証することで評価した。*HER2* 遺伝子に関しては、E395K、G815R、R929W 変異で腫瘍原性があることが確認されたが、*HER4* 遺伝子に関しては、すべてで腫瘍原性を認めなかった。腫瘍原性があることが確認された *HER2* 変異モデルに対して、afatinib と erlotinib を含む種々の EGFR-TKI の効果を細胞増殖阻害実験で評価し、すべての変異に対し、erlotinib よりも afatinib が有効であることを確認した。EGFR-TKI 曝露下での *HER2* リン酸化レベルを Western Blotting で評価し、細胞増殖阻害レベルと一致することを確認した。

以上より、LUX-Lung 8 試験の二次解析で同定された *HER2* 変異のうち、E395K、G815R、R929W 変異は腫瘍原性を有し、これらの *HER2* 変異に対しては、afatinib が erlotinib よりも有効であることが示された。肺扁平上皮がんにおいて腫瘍原生を有する *HER2* 変異は稀であるが、これらに対して afatinib が有用であることが示された。

学位論文審査結果報告書

申請者氏名： 濱田 颯

論文題目：肺扁平上皮がんを対象とした LUX-Lung 8 試験の二次解析で検出された *HER2/HER4* 遺伝子変異に対する afatinib の効果を検証した *in vitro* 研究

審査委員：主審査委員 中 島 修



副審査委員 欠 畑 誠 治



副審査委員 渡 辺 昌 文



審査終了日：令和 4年 7月 26日



【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

肺がん認められる遺伝子異常を標的とする分子標的薬において、EGFR チロシンキナーゼ阻害薬 (EGFR-TKI) が、肺腺がん治療で大きな成果を収めている。erlotinib に代表される第一世代 EGFR-TKI は EGFR (HER1) を標的とし、その適用は *EGFR (HER1)* 変異が多く認められる非小細胞肺がんが中心である。一方、肺扁平上皮がんでは *EGFR (HER1)* 以外の遺伝子異常が腫瘍原性を示す場合が多く、その効果は限定的である。

EGFR (HER1) のみを可逆的に阻害する第一世代 EGFR-TKI に加え、afatinib に代表される、HER1 に加え、HER2/4 に対しても不可逆的な阻害作用を有する第二世代 EGFR-TKI、第一・第二世代に耐性を有する腫瘍にも有効な第三世代の osimertinib が臨床応用されている。

肺扁平上皮がん患者を対象とした、erlotinib と afatinib の治療効果を比較した第Ⅲ相試験 (LUX-Lung 8 試験) で、afatinib の有効性が示された患者から、*HER2/4* 遺伝子において、臨床的意義が不明な遺伝子変異が多数、同定されている。しかし、肺扁平上皮がんでのこれらの変異の腫瘍原性や薬剤感受性の評価がなされておらず、肺扁平上皮がんに対する個別化医療のための抗がん剤選択に有用な知見が十分な状況とは言えない。

そこで、濱田氏は、上記の *HER2/4* 遺伝子の臨床的意義が不明な遺伝子変異の腫瘍原性を、*in vitro* 実験により評価を行い、現在、未解明の第二世代 EGFR-TKI の分子標的の解明を目指した。

マウス pro-B 細胞株 (Ba/F3 細胞) は IL-3 依存的に増殖を示すが、IL-3 非存在下ではアポトーシスが惹起され増殖能を示さない。濱田氏は、この性質を利用して、個々の変異をレトロウィルスベクターにより導入して、Ba/F3 細胞の IL-3 非依存的増殖能を解析することで、各変異の腫瘍原性を評価している。その結果、導入実験を行った 23 種の *HER2/4* 変異のうち、*HER2 E395K/G815R/R929W* の 3 種の変異が腫瘍原性を見出した。また、腫瘍原性を示した、3 種の *HER2* 変異をそれぞれ導入した Ba/F3 細胞に対して、afatinib は erlotinib よりも強い細胞増殖阻害効果および *HER2* およびそのシグナル伝達経路下流の Erk1/2 のリン酸化阻害効果を観察した。なお、afatinib よりも弱いものの、osimertinib も細胞増殖阻害効果および *HER2*・Erk1/2 のリン酸化阻害効果を示した。これらの結果から、新しく同定された 3 種の *HER2* 変異を有する肺扁平上皮がん患者には、afatinib などの第二世代 EGFR-TKI が有効であることを示唆している。

本研究は、腫瘍原性を培養細胞 1 種類のみでの変異体強制発現により評価しているため、その結果の臨床での有効性は、新たに検証する必要があると考えられる。しかし、肺扁平上皮がん患者へのオーダーメイド治療における抗がん剤選択に重要な知見を明らかにしていることから、審査会では、本研究が学位 (医科学) の授与に値するものと判定した。

(1, 200字以内)