

機関番号：83901

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20390376

研究課題名(和文) EGFR 経路の遺伝子に変異を有しない肺腺癌の分子病因解析と治療戦略の開発

研究課題名(英文) Molecular analysis of lung adenocarcinomas that do not have mutations in the EGFR pathway and development of therapeutic strategies against them

研究代表者

光富 徹哉 (MITSUDOMI TETSUYA)

愛知県がんセンター研究所 分子腫瘍学部 研究員

研究者番号：70209807

研究成果の概要(和文)：200 字

EGFR 遺伝子変異を有する肺がんには EGFR チロシンキナーゼ阻害剤が著効する。しかし、いずれは耐性を獲得する。また、多くの肺がんはこのような初期の治療標的すら明らかでない。本研究では、頻度は少ないが、HER2 や MET 遺伝子異常が肺がんの新規治療標的の可能性が、耐性獲得において EGFR 遺伝子の二次変異 T790M と MET 遺伝子増幅が、相補的な関連にあること、等を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：

EGFR tyrosine kinase inhibitor confers often dramatic response in lung cancer harboring EGFR mutation. However, virtually all the tumors acquire resistance. For large fraction of lung cancer, a efficacious therapeutic target is not known. In this study, we confirmed the HER2 mutation or MET amplification could be the therapeutic target although their incidences were low. Furthermore, we found a reciprocal relationship between T790M secondary mutation of the EGFR gene and MET amplification in acquire resistance.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
20 年度	5,500,000	1,650,000	7,150,000
21 年度	5,000,000	1,500,000	6,500,000
22 年度	4,200,000	1,260,000	5,460,000
総計	14,700,000	4,410,000	19,110,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・胸部外科学

キーワード：呼吸器外科学、分子標的治療、個別化医療

## 1. 研究開始当初の背景

### 増加している肺癌死亡と化学療法への失望、分子標的治療への期待

肺癌は日本人のがん死亡原因の第一位であり、平成 18 年の死亡者数は年間 6 万 3255 人をこえ増加中である。90 年代に新規の化

学療法剤が臨床に導入されたが、現在の IIIB/IV 期の標準的な治療成績は奏効率 30-40%、中間生存期間 8-10 ヶ月程度であり、化学療法による治療成績の改善はプラトーに達している。一方、初期の肺癌は外科手術によって治癒が得られるものの、進行癌に対しては拡大手術によっても遠隔臓器への再発は制御できない。

肺癌は早期から全身化する疾患であり、治療成績の改善のためには有効な薬物療法の開発が必須である。近年、癌細胞の特有の生物学的異常を標的とする分子標的薬剤が多数開発されており、これによって肺癌死亡率の減少がもたらされることに大きな期待が集まっている。

## EGFR チロシンキナーゼ阻害薬

2002年より世界に先駆けて日本で発売された上皮成長因子受容体 (EGFR) のチロシンキナーゼ阻害剤 (TKI) であるゲフィチニブや、最近承認されたエルロチニブはこのような分子標的薬のひとつであり、しばしば劇的な腫瘍縮小と臨床症状の改善をもたらす。著効例は女性、非喫煙者、腺癌といった、肺癌患者としてはやや特異な集団に多いことが、第二相試験の頃から明らかであったがその生物学的な基盤は不明であった。

## EGFR TKI の感受性規定因子

2004年に肺腺癌におけるEGFR遺伝子の突然変異が発見され、EGFR-TKIの感受性と密接に関連していることが明らかにされた。われわれを含む世界の研究者は、EGFRに変異を有する肺癌の70-80%にTKIが奏効する一方、

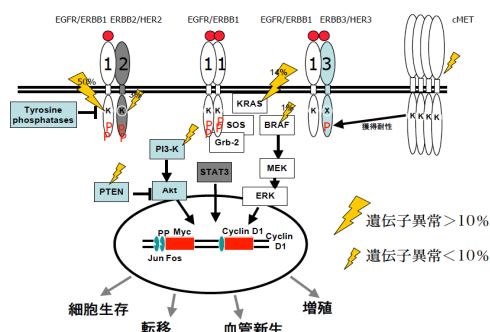


図1. 肺腺癌におけるEGFRと関連遺伝子の異常

変異がない肺癌では10%に奏効すること、EGFR変異のある症例はそうでないものに比べて有意にゲフィチニブ治療後の生存が延長すること等を明らかにした。EGFR変異以外のEGFR-TKIの効果予測因子としてはEGF, TGFといったリガンドの発現, EGFR遺伝子のコピー数, 発現, 他のHER family遺伝子の変化, EGFRの下流の遺伝子KRAS, PTEN, AKT遺伝子の変化なども報告されている。しかし、日本人の肺癌については効果予測因子としてはEGFR変異がもっとも優れていると思われる。

## EGFR-TKI の獲得耐性の分子機構

残念ながらEGFR変異を有して初期に劇的に奏効した症例でも、ほとんどの症例は耐性を獲得して腫瘍の再増殖がおこる。これらの症例の約半数はEGFR遺伝子のエクソン20のT790M突然変異による。最近Engelmanはわれわれとの共同研究において獲得耐性の原因の約20%がcMET遺伝子増幅によることをScience誌に報告した。

## 肺腺癌の分子分類の可能性

これらの一連の研究の結果明らかとなったことの中で非常に重要なことのひとつに、EGFR遺伝子変異(日本人の腺癌では約50%), HER2変異(3%), KRAS(14%), BRAF(1%)変異はそれぞれの遺伝子がEGFR経路のメンバーであるが、変異がおたがいに重複することがないということである。また、EGFR変異症例がEGFR-TKIに感受性であるのに対して、HER2, KRAS変異症例は耐性であり、臨床的な意義が大きい。われわれは世界に先駆けてKRASとEGFRの排他性を報告した。

## 2. 研究の目的

肺腺癌の約60%は相互に排他的な原癌遺伝子の異常を有しており、これらの異常は、それぞれの異常を有する肺腺癌において重要な治療標的であることが示されてきた。遺伝子異常の多くはEGFR経路(主にEGFRおよびKRAS)に存在するが、約40%の肺腺癌症例についてはこのようなkeyとなる遺伝子異常が明らかとなっておらず、EGFR以外のがん遺伝子経路について解析を広げていく必要がある。

本研究の目的は治療関連の肺がん遺伝子異常を明らかにすることにある。われわれはすでに肺腺癌200例のEGFR, HER2, KRAS遺伝子の解析を終了している。BRAF遺伝子変異頻度は日本人でも少ないので、実に134例はいずれの変異を有していたので、いずれも有しない約1/3の症例の分子機構の解明が本研究の第1の目的である。

第2の目的はEGFR-TKIの耐性の分子機構についての理解を深めることである。

## 3. 研究の方法

### (1) 候補遺伝子アプローチ

他臓器がんの研究から得られた知見や、ゲフ

イチニブの感受性との関連などから、これらの肺がんの発生に関連が疑われる遺伝子(産物)について塩基配列決定, コピー数決定(定量的PCR, FISH), 免疫染色などをおこなう。具体的にはMet, HER2, HER4, PTPN11, MEK1, ROS 遺伝子の異常について解析する。

## (2) EGFR-TKI の耐性機序の解明

EGFR 遺伝子変異のある肺がんに対してEGFR-TKI は初期では著効を示すものの、結局ほぼ全例が獲得耐性を示すようになる。これらについてはEGFR 遺伝子の二次変異であるT790M、MET 遺伝子増幅がその機序として知られているがその相互関係などについては十分明らかでないので、in vivo の系、剖検検体を用いてそれを明らかにする。

## 4. 研究成果

まず、gefitinib 耐性の一つの原因として報告されたMET 遺伝子異常を未治療肺腺癌において検討した。しかしながら、MET 増幅はまれであった(148 例中 2 例、1.4%)。一方、スプライス部位の変異によってユビキチンリガーゼ cCBL 結合部位をコードするエクソン 14 を欠失する突然変異は(211 例中 7 例、3.3%)に認められた。このような肺癌はMET 経路に依存している可能性があり、MET が分子標的として有望である(英文発表論文 13)。

次に少数例で肺癌における異常の報告があるPTPN11 遺伝子、ROS 融合遺伝子を解析した。それぞれ 241 例、92 例を解析したが、遺伝子変異は認めなかった。

MEK1 遺伝子変異、HER4 遺伝子変異を解析、それぞれ 92 例、98 例を検討したが変異は同定できなかった。HER4 に関しては、遺伝子発現と臨床病理学的因子・予後との関連も検討したが有意な関連は認めなかった(HER4 については英文発表論文 2)。

HER2 遺伝子変異については 502 例の大規模解析をおこない、13 例(2.6%)に変異を同定、その詳細な臨床病理学的因子や予後について、検討した。HER2 変異は女性、非喫煙、腺がんにかつた。EGFR 変異を有しない非喫煙者の腺がんあるいは腺扁平上皮がんに限るとHER2 変異は 78 例中 11 例(14%)に認められた。HER2 遺伝子変異症例(13/502)に既報からのHER2 遺伝子変異症例 14 例の最新データを加えて

詳細な検討をおこなったが、そのほかの肺がんと予後はあまりことになっていなかったが、化学療法の奏効は悪かった。一例のHER2 変異肺癌をHER2 特異抗体であるトラスツズマブによる治療を経験したが、よい奏効が得られた(英文発表論文 1)。

HCC827 細胞株よりエルロチニブ塩酸塩濃度を少しずつ増加させることで耐性株を得た。ゲフィチニブの耐性株と同様MET 遺伝子の増幅がそのメカニズムと考えられた。このとき、エルロチニブ耐性程度とMET コピー数は平行関係にあった。次に、MET 阻害剤存在下にエルロチニブの濃度を増加させて別の耐性株を作成したところ、興味深いことにT790M によって耐性化していた。このことは2大耐性機序であるEGFR T790M変異とMET 遺伝子増幅が、相反・相補的關係にあることを示している。さらに、ゲフィチニブ走行後に耐性となり死亡された6例の剖検例から得られた33腫瘍についてT790Mの有無とMETのコピー数を検索したところ、MET コピー数増加のない腫瘍ではT790M が93%に認められたのに対して、コピー数 $\leq 4$ の腫瘍、コピー数 $> 4$ の腫瘍におけるT790M 出現頻度はそれぞれ、80%、8%であり。In vivo においてもin vitro で観察されたと同様の相反・相補的關係を認めた。これらのことは肺がんのEGFR-TKI 治療の際、T790M とMET 増幅の両方の抑制が必要であることを強く示唆している(英文発表論文 4)。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 件)

英文(52 件のうち主要なもの)

1. Tomizawa K, Mitsudomi T, et al (10 番目/10 人) Prognostic and predictive implications of HER2/ERBB2/neu gene mutations in lung cancers. Lung Cancer 2011. Epub
2. Tomizawa K, Yatabe Y, Mitsudomi T, et al (6 番目/6 人) Analysis of ERBB4 mutations and expression in Japanese patients with lung cancer. J Thorac Oncol 2010; 5: 1859-61.

3. Suda K, Tomizawa K, Mitsudomi T. et al Biological and clinical significance of KRAS mutations in lung cancer: an oncogenic driver that contrasts with EGFR mutation. *Cancer Metastasis Rev* 2010; 29: 49-60.
4. Suda K, Y, Yatabe Y, Mitsudomi T. et al (9番目/9人) Reciprocal and Complementary Role of MET Amplification and EGFR T790M Mutation in Acquired Resistance to Kinase Inhibitors in Lung Cancer. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 5489-98.
5. Mitsudomi T, Yatabe Y. Epidermal growth factor receptor in relation to tumor development: EGFR gene and cancer. *FEBS J* 2010; 277: 301-8.
6. Mitsudomi T, Morita S, Yatabe Y, et al (1番目/21人) Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJTOG3405): an open label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2010; 11: 121-8.
7. Mitsudomi T. Advances in target therapy for lung cancer. *Jpn J Clin Oncol* 2010; 40: 101-6.
8. Katayama T, Yatabe Y, Mitsudomi T. et al (6番目/6人) Effect of gefitinib on the survival of patients with recurrence of lung adenocarcinoma after surgery: a retrospective case-matching cohort study. *Surg Oncol* 2010; 19: e144-9.
9. Choi YL, Mitsudomi T, et al (13番目/15人) EML4-ALK mutations in lung cancer that confer resistance to ALK inhibitors. *N Engl J Med* 2010; 363: 1734-9.
10. Yamamoto H, Toyooka S, Mitsudomi T. Impact of EGFR mutation analysis in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2009; 63: 315-21.
11. Varella-Garcia M, Mitsudomi T, et al (2番目/11人) EGFR and HER2 genomic gain in recurrent non-small cell lung cancer after surgery: impact on outcome to treatment with gefitinib and association with EGFR and KRAS mutations in a Japanese cohort. *J Thorac Oncol* 2009; 4: 318-25.
12. Suda K, Onozato R, Yatabe Y, Mitsudomi T. EGFR T790M mutation: a double role in lung cancer cell survival? *J Thorac Oncol* 2009; 4: 1-4.
13. Onozato R, Kosaka T, Kuwano H, Sekido Y, Yatabe Y, Mitsudomi T. Activation of MET by gene amplification or by splice mutations deleting the juxtamembrane domain in primary resected lung cancers. *J Thorac Oncol* 2009; 4: 5-11.
14. Morita S, Mitsudomi T, et al (15番目/17人) Combined survival analysis of prospective clinical trials of gefitinib for non-small cell lung cancer with EGFR mutations. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 4493-8.
15. Kosaka T, Yatabe Y, Onozato R, Kuwano H, Mitsudomi T. Prognostic implication of EGFR, KRAS, and TP53 gene mutations in a large cohort of Japanese patients with surgically treated lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol* 2009; 4: 22-9.
16. Jida M, Mitsudomi T, Yatabe Y, et al (3番目/17人) Usefulness of cumulative smoking dose for identifying the EGFR mutation and patients with non-small-cell lung cancer for gefitinib treatment. *Cancer Sci* 2009; 100: 1931-4.
17. Yatabe Y, Takahashi T, Mitsudomi T. Epidermal growth factor receptor gene amplification is acquired in association with tumor progression of EGFR-mutated lung cancer. *Cancer Res* 2008; 68: 2106-11.
18. Yano S, Mitsudomi T, Yatabe Y, et al (12番目/15人) Hepatocyte growth factor induces gefitinib resistance of lung adenocarcinoma with epidermal growth factor receptor-activating mutations. *Cancer Res* 2008; 68: 9479-87.
19. Toyooka S, Yatabe Y, Mitsudomi T, et al (14番目/15人) Epidermal growth factor

receptor mutation, but not sex and smoking, is independently associated with favorable prognosis of gefitinib-treated patients with lung adenocarcinoma. *Cancer Sci* 2008; 99: 303-8.

20. Tatematsu A, Mitsudomi T, Yatabe Y. et al (8番目/9人) Epidermal growth factor receptor mutations in small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 6092-6.

邦文(26件中主要なもの)

1. 須田健一, 小野里良一, 高坂貴行, 光富徹哉. EGFR受容体遺伝子変異を有する肺癌. 別冊日本臨床 2009; 10: 5-8.

2. 清水淳市, 光富徹哉. EGFR作用薬 EGFR-TKI reversibleについて. *Mebio Oncology* 2009; 6: 12-22.

3. 小野里良一, 須田健一, 高坂貴行, 光富徹哉. METの増幅、変異、多型. がん分子標的治療 2009; 7: 117-23.

4. 光富徹哉. 肺癌—EGFR標的治療のバイオマーカーとしてのEGFRとKRAS遺伝子. *カレントセラピー* 2009; 27: 1112-7.

5. 光富徹哉. EGFRに対する小分子阻害剤. 癌と化学療法 2009; 36: 1058-62.

6. 高坂貴行, 小野里良一, 光富徹哉. EGFR阻害剤耐性のメカニズム. *Annual Review 呼吸器* 2008. 東京: 中外医学社; 2008. p. 44-51.

7. 遠藤秀紀, 光富徹哉. EGFR遺伝子変異とEGFR-TKI阻害剤の感受性. *呼吸器科* 2008; 13: 246-50.

8. 片山達也, 高坂貴行, 小野里良一, 光富徹哉. EGFR-TKI (ゲフィチニブ, エルロチニブ)の基礎—効果, 副作用規定因子—. *最新医学* 2008; 63: 14-21.

9. 清水淳市, 光富徹哉. EGFRチロシンキナーゼ阻害薬の現状. *医学のあゆみ* 2008; 224: 45-50.

10. 光富徹哉, 小野里良一, 須田健一. 癌治療の分子標的としてのHGF-MET系. *SRL宝函* 2008; 29: 30-7.

11. 光富徹哉. EGFR-TKIの臨床効果とバイオマーカー. *日本臨床* 2008; 66: 583-7.

12. 光富徹哉. EGFR変異の生物学. *MOOK 肺がんの臨床* 2008-2009 2008: 77-85.

[学会発表] (計96件中主要なもの)

1. Mitsudomi T, What is the next option for acquired resistance to EGFR-TKIs?, 4th Asia Pacific Lung Cancer Conference, Seoul, Korea, 2010. 12. 4.

2. Mitsudomi T, EGFR-TKi in the first treatment option for patients with lung cancer harboring EGFR mutation, AstraZeneca satellite symposium, 4th Asia Pacific Lung Cancer Conference,

3. Mitsudomi T, Therapeutic strategies based on biological markers ...EGFR mutations and beyond, 第51回日本肺癌学会総会, 広島, 2010. 11. 4.

4. Mitsudomi T, How did EGFR mutation testing become routine in Japan?, AstraZeneca sponsored satellite symposium, 35th ESMO congress, Milan, Italy, 2010. 10. 8.

5. Mitsudomi T, EML4-ALK: Clinical data, 4th Asian Pacific Perspectives in Lung Cancer, Hong Kong, 2010. 9. 4.

6. Mitsudomi T, Suda K, Tomozawa K, Yatabe Y, Clinicopathologic features of early stage lung cancer with EML4-ALK translocation, American Society of Clinical Oncology annual meeting, Chicago, 2010. 6. 4-8.

7. Mitsudomi T, Targeted therapy of lung cancer - EGFR mutations and beyond, The 15th Taiwan Joint Cancer Conference, Taipei, 2010. 5. 1.

8. Mitsudomi T, Predictive and prognostic markers in the treatment of NSCLC, The 8th

Asia Pacific Oncology Summit, Tokyo, 2010. 3. 20.

9. Mitsudomi T, Asian evolution in advanced NSCLC treatment, Update in lung and liver cancer 2009, Chiangmai, Thailand, 2009. 11. 20.

10. Mitsudomi T, individualized treatment of lung cancer, 14th Congress of the APSR and 3d Joint Congress of the APSR/ACCP, Seoul, 2009. 11. 17.

11. Mitsudomi T, Biology of Lung Adenocarcinoma, 14th Congress of the APSR and 3d Joint Congress of the APSR/ACCP, Seoul, 2009. 11. 16.

12. Mitsudomi T, Personalized therapy of lung cancer...EGFR mutations and beyond, The 19th Hiroshima Cancer Seminar- The 3rd three universities' consortium International Symposium, Hiroshima, 2009. 11. 1.

14. Mitsudomi T, Novel therapeutic targets in lung cancer, Third Asian Pacific Conference Perspectives in Lung Cancer, Bangkok, 2009. 9. 11-12.

15. Mitsudomi T, Translational research on EGFR in lung cancer, 11th Meeting of Chinese Lung Cancer, 天津, 2009. 8. 2.

16. Mitsudomi T, Gazdar A, Yatabe T, EGFR and KRAS mutations in lung adenocarcinoma: Two contrasting and mutually exclusive mechanisms for pathogenesis, 13th World Conference of Lung Cancer, San Francisco, 2009. 8. 2.

17. Mitsudomi T, Targeted Therapy of Lung Cancer - Toward Personalized Treatment-, 台湾臨床腫瘍学会 Recent Advances in Target Therapy, Taipei, 2009. 2. 21.

18. Mitsudomi T, EGFR-targeted therapy of lung cancer, The 7th Kazusa Academia Respiratory Forum, Kisarazu, 2008. 9. 21.

19. Mitsudomi T, Personalized therapy of lung cancer using EGFR-TKI, The second

Asian Pacific Conference- Perspectives in Lung Cancer -, Sapporo, 2008. 8. 2.

20. Mitsudomi T, Is adenocarcinoma of the lung one disease?, 1st European Lung Cancer Conference, Geneve, 2008. 4. 25.

〔図書〕 (計 1 件)

Hirsch FR, Mitsudomi T, Janne PA. Chapter 49, Anti-EGFR therapies: How to select patients. In: Pass H, Carbone DP, Johnson DH, Minna JD, Turrisi AT, Scagliotti GV, editors. Principles and Practice of Lung Cancer. 4th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; 2010. p. 717-39.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

#### 6. 研究組織

- (1) 研究代表者  
光富 徹哉 (MITSUDOMI TETSUAYA)  
愛知県がんセンター研究所・分子腫瘍学  
部・研究員  
研究者番号: 70209807
- (2) 研究分担者  
谷田部 恭 (YATABE YASUSHI)  
愛知県がんセンター研究所・分子腫瘍学  
部・研究員  
研究者番号: 90280809