

# 学位論文審査結果の報告書

氏 名 小林 祥久

生 年 月 日 (昭和)・平成 58年 9月 7日

本 籍 ( 国 籍 ) 三重県

学 位 の 種 類 博 士 ( 医 学 )

学 位 記 番 号 医 第 1229 号

学 位 授 与 の 条 件 学位規程第5条該当  
( 博 士 の 学 位 )

論 文 題 目

EGFR Exon 18 Mutations in Lung Cancer : Molecular Predictors of Augmented Sensitivity to Afatinib or Neratinib as Compared with First- or Third-Generation TKIs

(肺癌におけるEGFR エクソン18 変異 : 第一及び第三世代チロシンキナーゼ阻害剤よりアファチニブとネラチニブへの効果予測因子)

審 査 委 員

(主 査)

中 川 和 彦



(副主査)

伊藤 彰彦



(副主査)

松 本 到



(副 査)



(副 査)



学位論文受理日 平成 28 年 11 月 15 日

学位論文審査終了日 平成 29 年 2 月 2 日

## 論文内容の要旨

### 【目的】

上皮増殖因子受容体 (EGFR) エクソン 19 欠失変異 (Del19) やエクソン 21 の L858R 変異のある肺癌には EGFR チロシンキナーゼ阻害剤 (TKI) が奏効する。一方でエクソン 20 挿入変異や T790M はこれらに耐性を示す。しかし、エクソン 18 変異の臨床的意義は不明である。

### 【方法】

愛知県がんセンターにおける 2001-2015 年の肺癌症例の EGFR 遺伝子変異を解析した。エクソン 18 の代表的変異 G719A、E709K、Del18 (delE709\_T710insD) を Ba/F3、NIH/3T3 細胞に導入した。第 1 世代 (ゲフィチニブ、エルロチニブ)、第 2 世代 (アファチニブ、ダコミチニブ、ネラチニブ)、第 3 世代 (AZD9291、CO1686) TKI に対する 90% 増殖阻害濃度 (IC90) を、Del19 の IC90 と比較した。

### 【結果】

1,402 例の EGFR 遺伝子変異陽性症例のうち、エクソン 18 変異は 3.2% であった。エクソン 18 変異を導入した Ba/F3 細胞はインターロイキン 3 非依存性に増殖し、NIH/3T3 細胞は接触阻害を越えてコロニーを形成したことから、腫瘍原性をもつことが示された。第 1 及び第 3 世代 TKI に対する G719A、E709K、Del18 の IC90 は Del19 の 11-50 倍以上であったが、アファチニブに対してはその差がわずかに 3-7 倍であった。ネラチニブに対しては、G719A と E709K の IC90 はむしろ Del19 よりも低く (各 1/25、1/5)、Del18 は Del19 と同等であった。Del18 肺癌の 1 例は、エルロチニブで病勢不変であったが、その後アファチニブを投与すると奏効した。文献検索から、G719X 変異肺癌に対する第一世代 TKI の奏効率は 35-56% であったが、アファチニブとネラチニブの奏効率は約 80% であった。

### 【考察】

従来、それぞれの EGFR 遺伝子変異は EGFR チロシンキナーゼ阻害剤に対して感受性変異または耐性変異と考えられていたが、本研究によってエクソン 18 変異はアファチニブまたはネラチニブが特に有効であることが示された。現在の遺伝子変異検出キットではエクソン 18 の全ての変異を検出することはできないが、稀な変異でも確かに腫瘍原性をもつこと、さらに、適切な TKI を使い分けることで治療標的となり得る。

### 【結論】

EGFR エクソン 18 変異肺癌は、第一及び第三世代 TKI よりもアファチニブまたはネラチニブが特に有効である。これらの変異を有する肺癌を実臨床で見逃さないようにするべきである。

博士論文の印刷公表	公 表 年 月 日	出版物の種類及び名称
	2015 年 7 月 23 日 公 表 (doi : 10.1158/1078-0432.CCR-15-1046)	博士学位論文
	EGFR Exon 18 Mutations in Lung Cancer: Molecular Predictors of Augmented Sensitivity to Afatinib or Neratinib as Compared with First- or Third-Generation TKIs	Clinical Cancer Research Vol. 21 No.23 p.5305~13
	全 文	2015 年 12 月 1 日 発 行

## 論文審査結果の要旨

### 1) 論文内容の要旨

#### 【目的】

上皮増殖因子受容体 (EGFR) エクソン19欠失変異 (Del19) やエクソン21のL858R変異のある肺癌にはEGFRチロシンキナーゼ阻害剤 (TKI) が奏効する。一方でエクソン20挿入変異やT790Mはこれらに耐性を示す。しかし、エクソン18変異の臨床的意義は不明である。

#### 【方法】

愛知県がんセンターにおける2001-2015年の肺癌症例のEGFR遺伝子変異を解析した。エクソン18の代表的変異G719A、E709K、Del18 (delE709\_T710insD) をBa/F3、NIH/3T3細胞に導入した。第1世代 (ゲフィチニブ、エルロチニブ)、第2世代 (アファチニブ、ダコミチニブ、ネラチニブ)、第3世代 (AZD9291、C01686) TKIに対する90%増殖阻害濃度 (IC90) を、Del19のIC90と比較した。

#### 【結果】

1,402例のEGFR遺伝子変異陽性症例のうち、エクソン18変異は3.2%であった。エクソン18変異を導入したBa/F3細胞はインターロイキン3非依存性に増殖し、NIH/3T3細胞は接触阻害を越えてコロニーを形成したことが示された。第1及び第3世代TKIに対するG719A、E709K、Del18のIC90はDel19の11-50倍以上であったが、アファチニブに対してはその差がわずか3-7倍であった。ネラチニブに対しては、G719AとE709KのIC90はむしろDel19よりも低く (各1/25、1/5)、Del18はDel19と同等であった。Del18肺癌の1例は、エルロチニブで病勢不変であったが、その後アファチニブを投与すると奏効した。文献検索から、G719X変異肺癌に対する第一世代TKIの奏効率は35-56%であったが、アファチニブとネラチニブの奏効率は約80%であった。

#### 【考察】

従来、それぞれのEGFR遺伝子変異はEGFRチロシンキナーゼ阻害剤に対して感受性変異または耐性変異と考えられていたが、本研究によってエクソン18変異はアファチニブまたはネラチニブが特に有効であることが示された。現在の遺伝子変異検出キットではエクソン18の全ての変異を検出することはできないが、稀な変異でも確かに腫瘍原性をもち、適切なTKIを使い分けることで治療標的となり得る。

#### 【結語】

EGFRエクソン18変異肺癌は、第一及び第三世代TKIよりもアファチニブまたはネラチニブが特に有効である。これらの変異を有する肺癌を実臨床で見逃さないようにするべきである。

### 2) 審査結果の要旨

本論文に対する最終試験は、平成29年1月16日16時から小講堂で実施された。

申請者が主治医をしていた肺癌患者で稀なEGFRエクソン18遺伝子変異が見つかったことをきっかけに、臨床的意義に関するデータが乏しいEGFRエクソン18変異肺癌の頻度と治療戦略について研究した。申請者自身がBa/F3細胞に代表的な遺伝子変異を導入して各種EGFRチロシンキナーゼ阻害剤の感受性を比較し、他の阻害剤よりも特にアファチニブまたはネラチニブが有効であることを見出した。この結果は包括的な文献検索による臨床データと一貫していた。本研究は、EGFRエクソン18変異に関する頻度、in vitro感受性、臨床データをまとめた初めての研究であり、対象患者の年間罹患数は世界で数千名にのぼることが予想され、独創的かつ臨床的意義の大きなものである。

最終試験では、本研究の背景、方法、結果と考察に加え、本研究を発展させてEGFR遺伝子変異全体の頻度と治療戦略に関してreview articleとしてまとめたこと、さらに、アファチニブ獲得耐性機序としての新規EGFR二次変異を発見したことも併せて発表された。これらに対して、主査の中川、副主査の伊藤教授と松村教授から質疑が行われた。

まず、伊藤教授よりEGFR変異の種類による蛋白の二量体化の違い、エクソン18変異肺癌に特徴的な病理組織像、EGFR蛋白におけるリン酸化されるチロシン残基の部位による違い、遺伝子導入細胞のウェスタンブロットにおけるリン酸化EGFRの発現程度の違い、遺伝子導入によるEGFR発現の程度を揃える方法などに関して質問された。次に、松村教授はEGFR遺伝子変異肺癌におけるクローンの多様性、検査方法によるEGFR遺伝子変異検出感度の違い、EGFRチロシンキナーゼ阻害剤の薬物動態と実験系の濃度設定などについて、最後に主査の中川より、エクソン19欠失変異とL858R変異に関する第三相比較試験の結果の解釈、ネラチニブの臨床開発の必要性、EGFR遺伝子変異毎の詳細な個別化治療確立に向けて今後必要なことなど、多方面にわたる質問を行った。

申請者は、これらの質問に対して自験例、文献によるデータなどの具体例を挙げながら極めて的確に応答した。

以上より、主査及び副主査による合議の上、提出された学術論文が確かに申請者の研究成果であること、学位授与にふさわしい知識や研究手技、研究遂行能力を持つものと判断し、最終試験を合格と判定した。

### 3) 最終試験の結果：

合格

### 4) 学位授与の可否：

可

## 博士學位論文最終試験結果の報告書

平成 29 年 1 月 24 日

## 審査委員

主 査

中川 和彦



副主査

伊藤 彰彦



副主査

松村 剛



副 査



学位申請者氏名

小林 祥久

論文題目

EGFR Exon 18 Mutations in Lung Cancer: Molecular Predictors of Augmented Sensitivity to Afatinib or Neratinib as Compared with First- or Third-Generation TKIs  
 (肺癌におけるEGFR エクソン18 変異: 第一及び第三世代チロシンキナーゼ阻害剤よりアフアチニブとネラチニブへの効果予測因子)

## 要 旨

本論文に対する最終試験は、平成29年1月16日16時から小講堂で実施された。  
 申請者が主治医をしていた肺癌患者で稀なEGFRエクソン18遺伝子変異が見つかったことをきっかけに、臨床的意義に関するデータが乏しいEGFRエクソン18変異肺癌の頻度と治療戦略について研究した。申請者自身がBa/F3細胞に代表的な遺伝子変異を導入して各種EGFRチロシンキナーゼ阻害剤の感受性を比較し、他の阻害剤よりも特にアフアチニブまたはネラチニブが有効であることを見出した。この結果は包括的な文献検索による臨床データと一貫していた。  
 最終試験では、本研究の背景、方法、結果と考察に加え、本研究を発展させてEGFR遺伝子変異全体の頻度と治療戦略に関してreview articleとしてまとめたこと、さらに、アフアチニブ獲得耐性機序としての新規EGFR二次変異を発見したことも併せて発表された。これらに対して、主査の中川、副主査の伊藤教授と松村教授から質疑が行われた。  
 まず、伊藤教授よりEGFR変異の種類による蛋白の二量体化の違い、エクソン18変異肺癌に特徴的な病理組織像、EGFR蛋白におけるリン酸化されるチロシン残基の部位による違い、遺伝子導入細胞のウェスタンブロットにおけるリン酸化EGFRの発現程度の違い、遺伝子導入によるEGFR発現の程度を揃える方法などに関して質問された。次に、松村教授はEGFR遺伝子変異肺癌におけるクローンの多様性、検査方法によるEGFR遺伝子変異検出感度の違い、EGFRチロシンキナーゼ阻害剤の薬物動態と実験系の濃度設定などについて、最後に主査の中川より、エクソン19欠失変異とL858R変異に関する第三相比較試験の結果の解釈、ネラチニブの臨床開発の必要性、EGFR遺伝子変異毎の詳細な個別化治療確立に向けて今後必要なことなど、多方面にわたる質問を行った。  
 申請者は、これらの質問に対して自験例、文献によるデータなどの具体例を挙げながら極めて的確に応答した。  
 以上より、主査及び副主査による合議の上、提出された学術論文が確かに申請者の研究成果であること、学位授与にふさわしい知識や研究手技、研究遂行能力を持つものと判断し、最終試験を合格と判定した。