

# HGF induced resistance to EGFR targeted drugs in non-small cell lung cancer

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/31506">http://hdl.handle.net/2297/31506</a>

## 【総説】

## 非小細胞肺癌のHGFによるEGFR阻害薬耐性の機構解明

## HGF induced resistance to EGFR targeted drugs in non-small cell lung cancer

金沢大学大学院医学系研究科がん医科学専攻がん分子標的医療学  
(腫瘍内科)

山田 忠 明

## はじめに

肺癌は難治性悪性腫瘍の代表であり、年間約6万5千人が肺癌により死亡している。その死亡者数は悪性腫瘍の中で最多であると同時に今後さらに増加することが予想されている。肺癌のうち、非小細胞肺癌は約85%を占める。その3分の2は、発見時点で既に切除不能であり、薬物療法が治療の中心である。また、非小細胞肺癌は腺癌、扁平上皮癌、大細胞癌などの組織型が含まれるが、従来、それらを区別することなく、殺細胞性抗癌剤による治療が行われてきた。しかし、近年の分子生物学的研究の進歩によって、非小細胞肺癌におけるoncogene driverが次々に発見されるとともに、その阻害活性を有する分子標的薬の臨床導入が進んだこと、また薬剤によっては効果や毒性が各組織型で異なることが臨床試験で示され、現在では、個々の腫瘍における発現分子プロファイルや遺伝子情報を評価することが、治療方針を決定する上で必須かつ標準的と考えられるようになってきた。

上皮成長因子受容体 (EGFR) チロシンキナーゼ阻害薬 (EGFR-TKI) であるゲフィチニブおよびエルロチニブは、現在進行期非小細胞肺癌患者を対象に広く本邦においても使用されている。現在ではEGFR-TKI治療を行った症例の集積によって、詳細な臨床情報が得られ、その有効性や有害事象などの全体像についても認識されつつある。2004年にEGFRの活性化型遺伝子変異を有する症例が発見され、EGFR-TKIの治療効果と相関することが示された。その後も、EGFR-TKIに対する耐性因子など治療に密接に関連する新たなバイオマーカーが次々に発見されている。さらに新たなトピックスとして2007年に自治医科大学の間野博行教授らによりEML4-ALK融合遺伝子による、いわゆるALK肺癌が発見された。ALK肺癌に対する治療薬の臨床応用についてはdriver mutationの発見からわずか4年で治療薬の承認に至っており、その開発速度はまさに特筆すべきことである。このような分子生物学的なアプローチを用いた研究は、この分野において急速なスピードで展開している。その後も、DDR2, ROS1, RET融合遺伝子などの新たなdriver mutationが次々と発見されている。

本稿では、当研究室で見出したMet受容体のリガンド分子である肝細胞増殖因子 (hepatocyte growth factor: HGF) が肺癌治療に用いられる複数の分子標的薬の耐性に関与すること、また、それらの耐性克服を目指した研究成果などを交えて、非小細胞肺癌における最新のEGFR阻害薬耐性の治療戦略について概説する。

上皮成長因子受容体 (epidermal growth factor receptor: EGFR)

上皮成長因子受容体 (epidermal growth factor receptor: EGFR) は分子量170kDaの膜貫通型チロシンキナーゼ受容体である。そのリガンドであるTGF $\alpha$ やEGF, アンフィレグリン (ARG) などがEGFRの細胞外領域に結合することでEGFRの二量体形成が引き起こされた

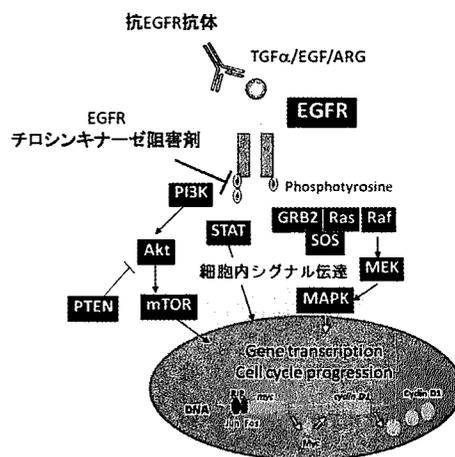


図1. EGFRの細胞内シグナル伝達とEGFR阻害化合物

結果、細胞内チロシンキナーゼ領域の活性化、EGFRの自己リン酸化が惹起される。この自己リン酸化は、癌細胞の増殖、進展に深く関与しうるシグナル伝達を活性化することが知られており、非小細胞肺癌では約62%にその発現を認め、EGFRの高発現が予後不良と相関することが報告されている。その他にも、頭頸部癌、卵巣癌、子宮頸癌、膀胱癌、食道癌、胃癌、大腸癌、乳癌などの多くの癌腫でEGFRの発現が報告され、がんの格好の治療標的分子として広く認識され、精力的な研究が進められている (図1)。

肝細胞増殖因子 (hepatocyte growth factor: HGF)/Met経路

肝細胞増殖因子 (hepatocyte growth factor: HGF) はscatter factorとして1989年に同定されたが、実際にHGFがMetのリガンドであることは1991年に明らかにされた。HGFはMetの唯一のリガンドとして作用し、その発現は肺癌、乳癌、胃癌、大腸癌、前立腺癌、頭頸部癌、肝癌、膀胱癌など多くの固形癌で増強している。また、担癌患者における血中HGFレベルの上昇は予後不良因子であることが報告されている。このようにHGFは癌遺伝子としての役割が示唆されている一方で、肝細胞癌や肺扁平上皮癌ではHGF過剰発現は癌細胞増殖の阻害作用を示すことが報告されている。HGF産生については、腫瘍由来 (オートクライン作用) あるいは間質細胞由来 (パラクライン作用) のどちらの機序についても存在し、それぞれの癌腫により異なることが知られている。

Met遺伝子は染色体7q31に存在し、7q25に位置するHGF/scatter factorに対する膜貫通型チロシンキナーゼ受容体をコードしている。HGFがMetのSEMAドメイン部位に結合すると、Met受容体のダイマー形成とリン酸化が起こり、立体構造変化を伴ってMetチロシンキナーゼ活性化が惹起される。続いてホスファチジルイノシト

ール3キナーゼ (PI3K)/Akt, Ras-Rac/Rho, Ras/MAPK など多くの下流シグナル伝達の活性化が引き起こされる。Metは腎細胞癌、肺腺癌、結腸直腸癌などで高発現しており、Metのリン酸化は肺腺癌や他の腺癌、あるいは頭頸部癌で高発現が確認されている。非小細胞肺癌におけるMet発現の頻度は、組織検体で100%、細胞株では89% (うち61%は強発現) で認める。さらに、組織型によるMet発現の比較では、Met遺伝子増幅については腺癌では予後不良因子である傾向を示したが、扁平上皮癌では予後不良因子ではないとされ、組織学的差異が報告されている。このような結果より、腺癌、特にEGFR-TKI耐性腫瘍に対してはMet阻害薬がEGFR-TKIにかわる治療薬となりうる可能性が示唆されている。

HGF/Met経路は、腫瘍細胞の細胞内シグナル伝達により多くのキナーゼ活性と同様に細胞増殖促進作用、アポトーシス阻害作用を示すが、それ以外にも、細胞解離、細胞遊走、細胞浸潤、分枝形成促進作用などの細胞運動能の亢進や形態形成作用も有することが知られている (図2)。また、Met経路はEGFR経路と相互作用を有することが示唆されている。

非小細胞肺癌におけるEGFRチロシンキナーゼ阻害薬の効果

ゲフィチニブ、エルロチニブはEGFRチロシンキナーゼ阻害薬 (EGFR tyrosine kinase inhibitor: EGFR-TKI) としてEGFRチロシンキナーゼドメインを選択的に阻害し、非小細胞肺癌の臨床において治療薬として用いられている。本邦では、2002年7月に世界に先駆けて手術不能または再発非小細胞肺癌に対し、ゲフィチニブが承認された。続いて、2007年10月に手術不能再発進行非小細胞肺癌にエルロチニブが承認され、現在では、2種類のEGFR阻害活性を有する薬剤が利用可能である。臨床的背景としては女性、腺癌、非喫煙者、東洋人が良好な奏効性を示すことが知られており、複数の前向き臨床試験において、これらの背景を有する症例では約70-75%の奏効が示されることが報告されている。

2004年に非小細胞肺癌患者の一部で発見されたEGFRの活性型遺伝子変異は、肺癌薬物治療の領域において極めて重要なブレイクスルーをもたらした<sup>1)</sup>。変異EGFRでは、EGFRシグナルが恒常的に活性化し、がん細胞はEGFRシグナルにいわゆるaddiction状態になっている。また、EGF受容体触媒領域にあるATP結合部位においてEGFR-TKIと高親和性を獲得することで細胞アポトーシスを誘導し、顕著な腫瘍縮小効果が得られる。この活性型遺伝子変異のうち実に約90%はExon19欠失およびExon21のL858R点突然変異が占めている (図1)。EGFR変

異陽性症例の約70-80%がEGFR-TKIに対し奏効し、そのうちExon19欠失変異は84%、L858Rは71%と高い奏効率を示している。*in vitro*においても4種類のEGFR変異の遺伝子導入を行い、エルロチニブ感受性について検討された研究では、Exon19欠失やL858R点突然変異が野生株に比べ、高感受性を示すことが報告された。また、EGFR活性型変異陽性肺癌患者を対象に行われた複数のランダム化第Ⅲ相比較試験では、EGFR-TKI治療が従来の標準治療である殺細胞性抗がん剤よりも有意に無増悪生存期間の延長効果を示すことが証明されている。このような臨床試験の結果をうけ、2010年に改訂された我が国の肺癌診療ガイドラインや海外のNCCNガイドラインの中でもEGFR変異陽性肺癌に対する初回治療にEGFR-TKIは推奨されるようになった。EGFR-TKIの臨床開発およびその治療効果予測バイオマーカーとしてのEGFR活性型遺伝子変異の発見は、非小細胞肺癌における個別化医療に向けたマイルストーンであると考えられる。EGFRチロシンキナーゼ阻害薬の耐性機構

上述の如くEGFR-TKIはEGFR遺伝子変異陽性肺癌に対する重要な治療薬であることが認識されている。しかしながら、EGFR活性型遺伝子変異を有する肺癌症例のうち20-30%でEGFR-TKIに対し治療抵抗性を示し (初期耐性)、また著明な効果を示した症例でさえ治療開始後一定の期間治療を加えることにより例外なく耐性化をきたす (獲得耐性) ことが臨床で、次の課題と考えられる。

近年の研究から、EGFR-TKIに対する耐性機構としてEGFR-T790M二次的遺伝子変異やMet遺伝子増幅、HGF過剰発現、IGF結合蛋白の欠乏、小細胞がん転化、EMT、PTEN欠失、クロマチン修飾による可逆的な耐性など、前臨床試験において次々に異なるメカニズムが報告されている。そのうち、EGFR遺伝子の二次的変異T790MはExon20のEGF受容体触媒領域にあるATP-binding pocketに存在し、EGFR-TKI (エルロチニブやゲフィチニブ) の結合部位において重要な役割を示すと考えられる。これらの薬剤の耐性機構としては、T790M二次的遺伝子変異の獲得によりEGFRとATPの結合能が高まることで、EGFR-TKIによるシグナル阻害作用が相対的に低下し、薬剤耐性が惹起されると考えられている。その他、T790M以外のEGFR遺伝子変異獲得耐性症例についてはわずか1例ではあるが、脳転移巣でExon19の点突然変異D761Yを認めたとの報告もある。また、Met遺伝子増幅による耐性は、チロシンキナーゼ受容体であるMetの遺伝子増幅が生じてErbB3受容体と会合することで下流のPI3K/Aktを活性化し、耐性が誘導される。これを報告したEngelmannらは、EGFR-TKI高感受性株であるHCC827のゲフィチニブ耐性株HCC827GRを樹立し、リン酸化チロシンキナーゼアレイを用いて親株と比較したところゲフィチニブ投与下でもEGFR, Met, ErbB3のリン酸化が亢進していることや、SNIPアレイの検討において耐性株ではMet遺伝子7q31.1-7q33.3領域の増幅が起こっていることを発見した。そのメカニズムについては遺伝子増幅をきたしたMetがEGFRとダイマー形成しているErbB3と会合し、リン酸化されることによってEGFR-TKIに阻害されていたErbB3/PI3K/Aktの細胞内シグナル経路の活性化が維持され、腫瘍増殖作用を示し、耐性化を誘導すると報告している。

これらの耐性克服治療薬としては、EGFR-T790Mによる薬剤耐性には不可逆型EGFR-TKIを用いた治療が、Met

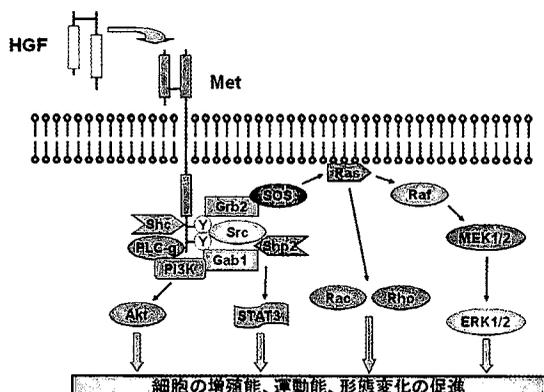


図2. HGF/Metシグナル

遺伝子増幅による薬剤耐性についてはMet阻害薬とEGFR-TKIの併用治療が、理論上は奏効するものと考えられている。しかしながら、EGFR-TKIの耐性機構は同一腫瘍内で共存することも報告され、これまでに行われたEGFR-TKI獲得耐性症例を対象とした不可逆型EGFR-TKIによる臨床試験では期待されるような良好な治療成績は得られていない。そのため、EGFR-TKIの耐性克服のための研究は今後さらなる発展が必要であると考えられている。

HGFによるEGFR-TKI耐性機構

EGFR遺伝子変異を有する症例のうちEGFR-TKI治療に対し、初期耐性あるいは獲得耐性を示すものが存在する。さらに、EGFR-TKI獲得耐性後にTKI治療を休止 (drug holiday) し、一定の期間の後に再度TKI治療を開始 (re-challenge) すると再び治療効果が得られる症例を経験する。また、EGFR-TKI治療により治療効果を示す症例の中でも原発巣には有効であるが、肝臓や副腎などの他の実質臓器転移部位では効果をささない症例にもしばしば遭遇する機会がある。このようなEGFR-TKIに関する様々な臨床での経験を踏まえて、我々は、不可逆な耐性を示すEGFR-T790MやMet遺伝子増幅などのgenomicな耐性機構では説明できないような、それぞれの転移部位による臓器特異的ながん微小環境因子による耐性機構が存在するのではないかと仮説を立て、がん微小環境由来のさまざまな増殖因子について検討を行い、HGFに着目するに至った。

我々は、EGFR活性型変異Exon19欠失を有し、EGFR-TKIに高感受性を示す肺腺癌細胞株PC-9およびHCC827細胞を用いて、増殖因子によるゲフィチニブ耐性誘導作用を検討した。これらの細胞株ではEGFR-T790MやMet遺伝子増幅などの既知の耐性因子は検出されなかった。ゲフィチニブ治療にHGF, EGF, TGF- $\alpha$ , IGF-1などのチロシンキナーゼ受容体のリガンドである種々の増殖因子を添加したところ、興味深いことにHGF添加によってのみ強いゲフィチニブ耐性作用が誘導されることを見出した。EGFRおよびMetの下流シグナル伝達経路の解析では、HGFがその受容体であるMetのリン酸化を誘導し、PI3K/AktおよびErk1/2シグナル伝達を活性化することによって、PC-9およびHCC827細胞のゲフィチニブ耐性を誘導していることを発見した (図3)。また、既報のMet遺伝子増幅がErbB3と会合することで下流シグナルを活性化し、ゲフィチニブ耐性を誘導するのに対し、本メカニズムではEGFRおよびErbB3とは無関係にHGF/Met経路

から下流シグナル伝達の活性化が誘導されることを明らかにした。その後、Turke ABらによって、HGFによる耐性機構の下流シグナルはMet遺伝子増幅と異なり、Gab1を介していることが報告されている<sup>2)</sup>。本研究で用いたPC-9およびHCC827細胞は、がん細胞自身はHGFを産生していないが、HGF遺伝子導入によりリコンビナントHGFを使用した際と同様にゲフィチニブに対する治療抵抗性を示した。また、肺腺癌16症例より得た臨床検体を用いた免疫組織化学染色法による検討では、EGFR活性型遺伝子変異を有する初期耐性症例3例のうち全例で、EGFR-T790MとMet遺伝子増幅のいずれも有さない獲得耐性症例のうち2例中1例でHGF高発現を確認した。一方、EGFR-TKI治療に対し感受性を示す症例やEGFR-T790M二次的変異を有する獲得耐性症例ではHGF発現レベルは低発現を示していた。これらの結果から、EGFR遺伝子活性型変異を有するにもかかわらずEGFR-TKIに初期耐性を示した症例やEGFR-T790MやMet遺伝子増幅を伴わず獲得耐性となった症例の少なくとも一部においては、HGF産生亢進を介したHGF/Metシグナル伝達の活性化によりEGFR-TKI耐性が誘導されていることが示唆された<sup>3)</sup>。これらのHGFにより誘導されるEGFR-TKI耐性は、HGF/Met阻害薬による克服が期待されている。具体的な治療標的としては、HGFの中和作用、Metへの結合阻害、Metチロシンキナーゼ阻害、下流シグナル阻害などがあげられ、EGFR-TKIとの併用治療によりHGFによる耐性の克服が考えられる (図4)。

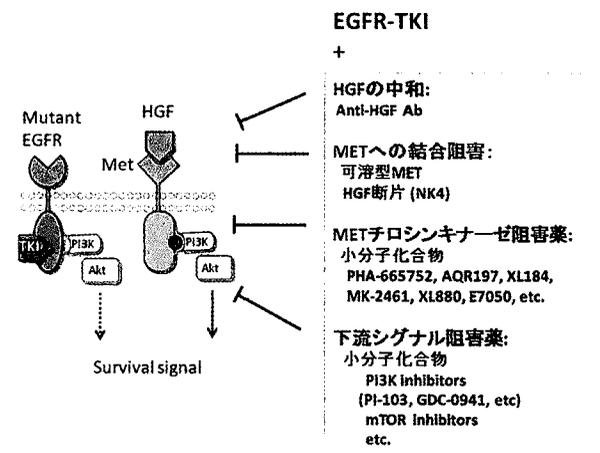


図4. HGFによる耐性の克服薬

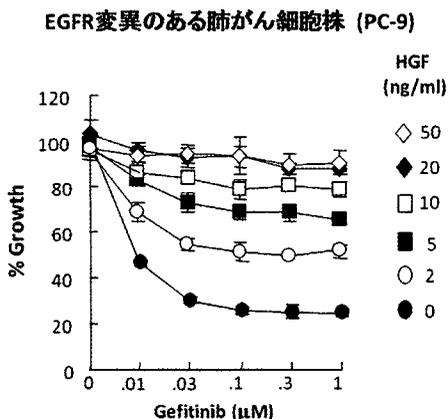


図3. HGFはEGFR変異を有する肺腺がん細胞に対し、ゲフィチニブ耐性を誘導する (文献3より抜粋)

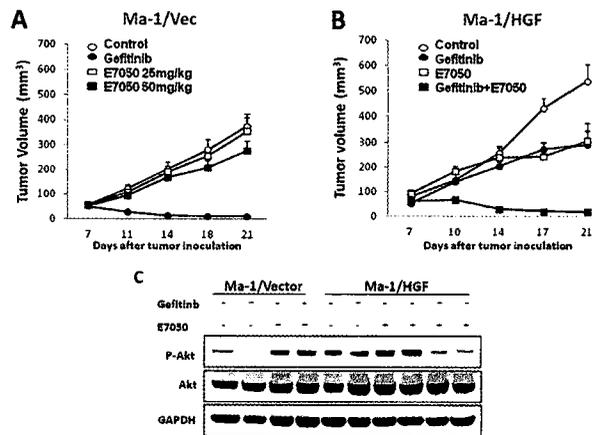


図5. Met阻害薬E7050は、HGFによるゲフィチニブ耐性を克服する (文献4より抜粋)

我々は新規Met阻害薬であるE7050を用いて、これらHGF高発現によるEGFR-TKI耐性を克服できるかを検証した。E7050は無細胞系においてMetを23nMのIC<sub>50</sub>値で阻害するATP拮抗型の低分子化合物であり、現在いくつかの癌種で臨床試験が進められている薬剤である。前述のように、肺癌細胞株PC-9とHCC827にHGF添加することで誘導されたゲフィチニブ耐性はE7050を併用することにより克服された。さらに、HGFおよびゲフィチニブの長期間暴露によるゲフィチニブ耐性クローンの増殖もE7050併用により阻止できることを確認した。HGFによる耐性モデルとして、EGFR変異肺癌細胞Ma-1にHGFを遺伝子導入したMa-1/HGFを皮下移植したマウスモデルにおいても、E7050併用療法はHGFによるゲフィチニブ耐性を克服し、腫瘍縮小効果を示すことを確認した<sup>4)</sup>(図5)。その他、我々はこれまでにHGF/Metの下流シグナルを阻害しうる候補薬として、PI3K/mTOR阻害薬やheat shock protein90 (Hsp90) 阻害薬が、HGFによるEGFR-TKI耐性を克服する可能性を示している<sup>5)</sup>。今後、臨床試験の中で安全性を慎重に評価しつつ、HGF/Metによる耐性克服に対するEGFR-TKIとの併用療法の有効性が証明されることを期待したい。

次に、我々はがん微小環境由来のHGFに着目した研究を行った。HGFの産生源としては癌細胞自身(オートクライン作用)以外にも、がん微小環境に存在する正常細胞から産生されるパラクライン作用の両者の可能性がある。そこで、様々な検討を行ったところ、細胞株や臨床検体から樹立したヒト線維芽細胞株がHGFを高産生していることを確認した。また同様に、腫瘍に浸潤した線維芽細胞がゲフィチニブ耐性を誘導することはMinkらによっても確認され、報告されている。本研究では、これらの線維芽細胞由来のHGFがEGFR変異陽性肺癌細胞株に対し、共培養条件下でゲフィチニブ耐性を誘導することを確認した。さらに、腫瘍間質から産生されるHGFによる耐性モデルとして、HGFを高産生するヒト線維芽細胞MRC-5とEGFR変異陽性肺癌細胞PC-9を皮下へ共移植したマウスモデルにおいても、ゲフィチニブ耐性が誘導され、HGF-Met阻害薬(抗HGF抗体やNK4)が耐性克服しうることを報告した<sup>7)</sup>。

#### 臨床検体におけるEGFR-TKI耐性腫瘍の検討

臨床検体を用いた検討は、前臨床試験の成果を臨床へ還元する上で大変重要なステップである。これまでに報告された複数の研究から、EGFR-T790M二次的遺伝子変異とMet遺伝子増幅は獲得耐性腫瘍のそれぞれ50%、5-20%程度に関与することが報告されていた。一方、EGFR-TKIの初期耐性因子に関する検討では、EGFR-T790M遺伝子変異は約0.5%の頻度で存在することやK-ras遺伝子変異の関与が報告されている。しかし、K-ras遺伝子変異はEGFR遺伝子変異とは基本的には排他的であるとされている。さらに喫煙者でK-Ras遺伝子変異の発現は多く、他の遺伝子変異との重複症例が数多く存在することから、単独ではEGFR-TKI初期耐性因子であると解釈しがたい状況である。

我々はEGFR-TKI耐性症例におけるHGF過剰発現の臨床的な頻度を明らかにすることを主目的に、本邦10施設との共同研究において日本人のEGFR変異肺癌97腫瘍を対象にHGF発現(免疫染色法)のほか、既知の耐性機構であるEGFR-T790M変異(PCR法)、Met遺伝子増幅(FISH法)について検討を行った。EGFR-TKI獲得耐性23腫瘍のうち、EGFR-T790M変異は12/23(52%)、Met遺伝

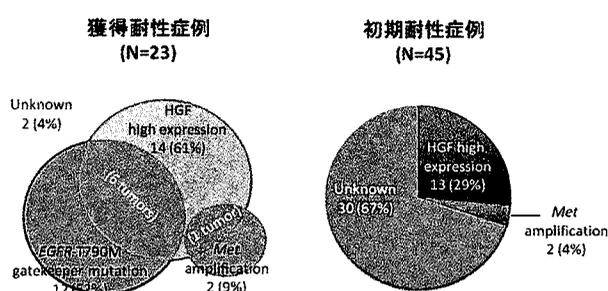


図6. 日本人EGFR変異肺癌におけるEGFR-TKI耐性機構の頻度(文献8より改変)

子増幅は2/23(9%)、HGF高発現は14/23(61%)の割合で認められ、高頻度にHGF/Metシグナルの活性化がEGFR-TKIの獲得耐性に関与していることが示唆された。初期耐性45腫瘍では、T790M変異は0/45(0%)、Met遺伝子増幅は2/45(4%)、HGF高発現は13/45(29%)の割合で認められていた(図6)。また、HGF高発現はEGFR-TKI感受性腫瘍と比較し、獲得耐性腫瘍で有意に高頻度に認めることも明らかにした。さらに獲得耐性腫瘍のうち、HGF高発現はEGFR-T790M変異、Met遺伝子増幅とそれぞれ、6/12(50%)、1/2(50%)と高頻度に共発現していることが明らかとなり、HGFが既知の耐性機構に共存することで単一の耐性機構の制御では耐性克服できない可能性が示された<sup>8)</sup>。EGFR-TKI耐性腫瘍におけるHGF過剰発現を検討した他の複数の報告でもHGF高発現は我々の検討と同様、50-60%に認めることが示されていることから、HGFがEGFR-TKIの耐性機構に高頻度に関与している可能性を支持する結果が得られている。

一方で、HGFの定量化やカットオフ値の設定などがバイオマーカーとして臨床応用する際の課題であるが、末梢血液中のHGFの測定がEGFR-TKI感受性の予測因子となりうる可能性も示唆され、今後の前向き試験の結果が期待される。

#### HGFによる次世代EGFR-TKIの耐性機構

EGFR-TKI耐性においてHGF高発現には3つの役割が考えられる。一つはMetがHGFにより活性化され、Gab1/PI3K/Aktシグナルを活性化し、代替経路として生存シグナルを伝達することでEGFR-TKI耐性を誘導する役割である。次にMet遺伝子増幅を有するごく僅かな細胞集団の増殖促進作用である。Turke ABらはEGFR活性型変異を有する肺癌細胞株HCC827をHGFとEGFR-TKIの存在下で培養を継続すると、細胞集団の中に僅かに存在するMet遺伝子増幅を有する細胞の増殖が促進され、多数を占めることでEGFR-TKIへの耐性がより早期に生じることを報告している<sup>2)</sup>。第3にEGFR-T790M変異獲得腫瘍に対する不可逆型EGFR-TKI(CL-387,785, BIBW2992)や変異選択的EGFR-TKI(WZ4002)など今後期待される次世代EGFR-TKIによる治療の耐性因子としての役割である。我々は肺癌細胞株を用いた検討で、ゲフィチニブ、エルロチニブのみならず、次世代EGFR-TKIに対してもHGFが耐性を誘導することを見出した<sup>9-11)</sup>。現在、進められている不可逆型EGFR-TKIの臨床試験では既存のEGFR-TKI(ゲフィチニブ、エルロチニブ)に対する獲得耐性症例のうち耐性機構の約半数に関与が示唆されるEGFR-T790M耐性を克服すると想定されたが、その有効性は示されていない。その一方で、前述のようにEGFR阻害薬の獲得耐性後の臨床検体を用いた検討において

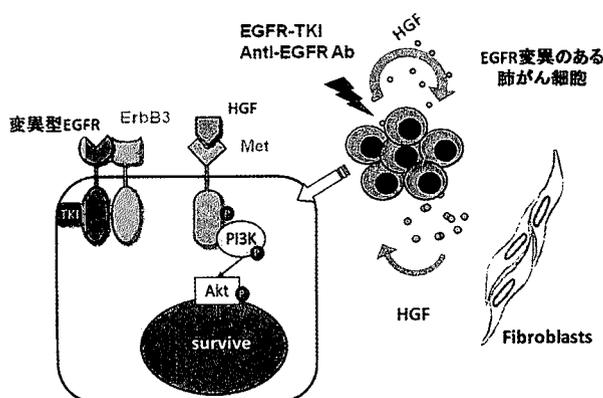


図7. HGFはオートクラインおよびパラクラインメカニズムにより肺がん細胞のEGFR-TKI耐性を誘導する

EGFR-T790M変異とHGF過剰発現が高率に共存することが報告されている。我々の研究は、HGFがEGFR-T790M変異と腫瘍内で共存することが、期待されていた不可逆型EGFR-TKIの治療効果を十分に発揮できなかった要因であることを示しており、EGFR-TKI耐性克服に向けたより一層の臨床研究が必要であると考えている。

#### HGFによる抗EGFR抗体の耐性機構

EGFRに対する抗体医薬品である抗EGFR抗体Cetuximabは、我が国で結腸直腸癌において承認され、実地臨床で用いられている。肺癌領域では免疫染色法にてEGFR発現を認めた非小細胞肺癌患者を対象に、従来の標準治療のひとつであるCDDP+VNB併用化学療法にCetuximabの上乗せ効果を検証する第Ⅲ相臨床試験(FLEX試験)が行われ、主要評価項目である全生存期間(overall survival; OS)においてCetuximab上乗せ治療群の有意な延長効果が示された。しかし、OSの延長はわずか1.2か月と期待しうる効果は得られず、他に行われた同様の比較第Ⅲ相試験(BMS099試験)では上乗せ効果は証明されなかった。そのため、現時点で我が国ではCetuximabは非小細胞肺癌への臨床応用に至っていない。一方で非小細胞肺癌では、結腸直腸癌で示されているK-Ras遺伝子変異や、EGFR-TKIで示されたEGFR遺伝子変異の有無もCetuximabの奏効性と相関は示されておらず、臨床応用の可能性を考えた際に、奏効性と関与する新たなバイオマーカーの発見が必須である。

我々はEGFR-TKIと同様、抗EGFR抗体であるCetuximab耐性機構にHGFが関与しうるか否かについて、EGFR遺伝子変異陽性株および野生株の双方を用いて検討した。Cetuximabに対して高感受性を示すEGFR変異陽性肺癌(Ma-1)と野生型肺癌(H292)細胞では、HGFの添加によりCetuximab耐性を示すことがわかった<sup>14)</sup>。また、HGF遺伝子導入株Ma-1/HGF細胞はCetuximab耐性を示し、HGFを高産生するヒト線維芽細胞MRC-5との共培養でもCetuximab耐性が惹起された。このことは、HGFがオートクラインおよびパラクラインの両方の作用で、EGFR遺伝子変異の有無に関わらず、Cetuximab耐性を生じうることを示唆している。この耐性機構はEGFR-TKIと同様、Met受容体から下流のGab1/Aktシグナルを介していた。さらに、腫瘍間質から産生されるHGFによる耐性モデルとして、HGFを高産生するヒト線維芽細胞MRC-5とH292を皮下へ共移植したマウスモデルにおいてCetuximabの治療効果を評価したところ、共移植群ではH292単独移植群と比較し、有意にCetuximab

治療に対して耐性を示した。このように、EGFR変異の有無に関わらず、抗EGFR抗体Cetuximabにおける耐性化のバイオマーカーとしてHGFが関与している可能性が示されたことから、臨床検体を用いたCetuximabの治療効果との関与について検討が必要である。

#### おわりに

難治性癌の代表である非小細胞肺癌の治療は、EGFR-TKIをはじめとする分子標的治療薬の登場によって個別化治療の方向へパラダイムシフトを生じ、その進歩はめざましいものがある。その一方で、薬剤耐性の機構解明とその耐性克服法の確立は、今後の益々の発展が期待される分子標的治療薬の開発において、大変重要な課題である。今回取り上げたHGFによるEGFR阻害薬の耐性機構(図7)をはじめとする数多くの知見の集積により適切な患者選択のための新たなバイオマーカーの発見や治療薬開発が速やかに遂行されることが望まれる。その結果、より多くの肺癌患者さんへの福音となることを期待したい。

#### 謝辞

本総説執筆にあたりご指導を賜りました金沢大学大学院医学系研究科がん分子標的医療学腫瘍内科 矢野聖二教授に深謝いたします。また、本研究成果において様々な方面から協力をいただきました腫瘍内科教室の教室員一同に感謝申し上げます。最後に、今回の執筆の機会を与えていただきました金沢大学十全医学会編集委員長長の井関尚一教授、編集委員の松本邦夫教授、ならびに関係の方々へ厚く御礼申し上げます。

#### 文献

- 1) Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, Gurubhagavatula S, Okimoto RA, Brannigan BW, Harris PL, Haserlat SM, Supko JG, Haluska FG, Louis DN, Christiani DC, Settleman J, Haber DA. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med* 350: 2129-2139, 2004
- 2) Turke AB, Zejnullahu K, Wu YL, Song Y, Dias-Santagata D, Lifshits E, Toschi L, Rogers A, Mok T, Sequist L, Lindeman NI, Murphy C, Akhavanfar S, Yeap BY, Xiao Y, Capelletti M, Iafrate AJ, Lee C, Christensen JG, Engelman JA, Jänne PA. Preexistence and clonal selection of MET amplification in EGFR mutant NSCLC. *Cancer Cell* 17: 77-88, 2010
- 3) Yano S, Wang W, Li Q, Matsumoto K, Sakurama H, Nakamura T, Ogino H, Kakiuchi S, Hanibuchi M, Nishioka Y, Uehara H, Mitsudomi T, Yatabe Y, Nakamura T, Sone S. Hepatocyte growth factor induces gefitinib resistance of lung adenocarcinoma with epidermal growth factor receptor-activating mutations. *Cancer Res* 68: 9479-9487, 2008
- 4) Takeuchi S, Wang W, Li Q, Yamada T, Kita K, Donev IS, Nakamura T, Matsumoto K, Shimizu E, Nishioka Y, Sone S, Uenaka T, Yano S. Dual Inhibition of Met Kinase and Angiogenesis to Overcome HGF-induced EGFR-TKI Resistance in EGFR Mutant Lung Cancer. In revision
- 5) Donev IS, Wang W, Yamada T, Li Q, Takeuchi S, Matsumoto K, Yamori T, Nishioka Y, Sone S, Yano S. Transient PI3K inhibition induces apoptosis and overcomes HGF-mediated resistance to EGFR-TKIs in EGFR mutant lung cancer. *Clin Cancer Res* 17: 2260-2269, 2011
- 6) Koizumi H, Yamada T, Takeuchi S, Nakagawa T, Kita K, Nakamura T, Matsumoto K, Yano S. Hsp90 inhibition overcomes HGF-triggering resistance to EGFR-TKIs in EGFR mutant lung cancer by decreasing client protein expression and angiogenesis. *J Thorac Oncol*. In press
- 7) Wang W, Li Q, Yamada T, Matsumoto K, Matsumoto I, Oda M, Watanabe G, Kayano Y, Nishioka Y, Sone S, Yano S. Crosstalk to stromal fibroblasts induces resistance of lung cancer to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors. *Clin Cancer Res* 15: 6630-6638, 2009
- 8) Yano S, Yamada T, Takeuchi S, Tachibana K, Minami Y, Yatabe Y, Mitsudomi T, Tanaka H, Kimura T, Kudoh S, Nokihara H, Ohe Y, Yokota J, Uramoto H, Yasumoto K, Kiura K, Higashiyama M, Oda M, Saito H, Yoshida J, Kondoh K, Noguchi M. Hepatocyte growth factor expression in EGFR mutant lung cancer with intrinsic and acquired resistance to tyrosine kinase inhibitors in a Japanese cohort. *J Thorac Oncol* 6: 2011-2017, 2011
- 9) Yamada T, Matsumoto K, Wang W, Li Q, Nishioka Y, Sekido Y, Sone S, Yano S. Hepatocyte growth factor reduces susceptibility to an irreversible epidermal growth factor receptor inhibitor in EGFR-T790M mutant lung cancer. *Clin Cancer Res* 16: 174-183, 2010
- 10) Wang W, Li Q, Takeuchi S, Yamada T, Koizumi H, Nakamura T, Matsumoto K, Mukaida N, Nishioka Y, Sone S, Nakagawa T, Uenaka T, Yano S. Met Kinase Inhibitor E7050 Reverses Three Different Mechanisms of Hepatocyte Growth Factor-induced Tyrosine Kinase Inhibitor Resistance in EGFR Mutant Lung Cancer. *Clin Cancer Res* 18: 1663-1671, 2012
- 11) Yamada T, Takeuchi S, Kita K, Bando H, Nakamura T, Matsumoto K, Yano S. Hepatocyte growth factor induces resistance to anti-epidermal growth factor receptor antibody in lung cancer. *J Thorac Oncol* 7: 272-280, 2012