

ORIGINAL ARTICLE

## EGFR 遺伝子活性型変異陽性の非小細胞肺癌患者において ゲフィチニブ治療中に認められた耐性形式の検討

佐藤輝幸<sup>1,2</sup>・井上 彰<sup>2</sup>・福原達朗<sup>2</sup>・榎原智博<sup>2</sup>・  
太田洋充<sup>1,2</sup>・海老名雅仁<sup>1,2</sup>・西條康夫<sup>3</sup>・貫和敏博<sup>1,2</sup>

### Retrospective Analysis of Acquired Resistance During the Treatment with Gefitinib in Non-Small Cell Lung Cancer Patients with Epidermal Growth Factor Receptor Mutations

Teruyuki Sato<sup>1,2</sup>; Akira Inoue<sup>2</sup>; Tatsuro Fukuhara<sup>2</sup>; Tomohiro Sakakibara<sup>2</sup>;  
Hiromitsu Ohta<sup>1,2</sup>; Masahito Ebina<sup>1,2</sup>; Yasuo Saijo<sup>3</sup>; Toshihiro Nukiwa<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Department of Respiratory Medicine, Graduate School of Medicine, Tohoku University, Japan; <sup>2</sup>Department of Respiratory Medicine, Tohoku University Hospital, Japan; <sup>3</sup>Department of Medical Oncology, Hirosaki University, Japan.

**ABSTRACT** — **Background.** Gefitinib, a selective inhibitor of tyrosine kinase of the epidermal growth factor receptor (EGFR), can be effective in patients with non-small-cell lung cancer (NSCLC) harboring somatic mutations of EGFR. However, the clinical resistance to gefitinib is an unsolved problem. **Methods.** We analyzed patients with advanced NSCLC with EGFR mutations treated with gefitinib between June 2004 and June 2007 in our institution. The effectiveness of gefitinib, the pattern of relapse, progression-free survival (PFS), and overall survival were assessed retrospectively. EGFR mutations were all examined by DNA direct sequence or peptide nucleic acid-locked nucleic acid (PNA-LNA) polymerase chain reaction (PCR) clamp method by using the tumor specimen before treatment, and re-examination of EGFR mutations by using relapsed tumor sample was performed for some patients. **Results.** From June 2004 to June 2007, 51 patients with advanced NSCLC harboring EGFR mutations started treatment with gefitinib, and 36 had partial response and 8 had stable disease. The overall response rate and disease control rate were 71% and 86%, respectively. Among 44 responders to gefitinib, disease progression was observed in 33 patients by April 2008. The initial sites of relapse were thoracic (primary lung tumor, pleural effusion, etc) in 21 patients, and distant (brain, bone, etc) in 12 patients. There was no statistical difference in PFS among the initial sites of recurrence. T790M, a resistant mutation of EGFR, was detected in 3 specimens obtained after relapse. Interestingly, most of patients with initial relapse in the thorax had to change the treatment from gefitinib within 3 months, however, more than half of the patients with brain relapse could be managed by radiation therapy with gefitinib for over 3 months. The median survival time of patients with initial relapse in the brain was 28.2 months, which is quite better than that of general NSCLC patients with brain metastasis. **Conclusion.** Different patterns of relapse were observed in NSCLC patients treated with gefitinib. The new therapeutic strategy according to the mechanism of resistance to EGFR-TKI is warranted.

(JLCC. 2009;49:257-261)

**KEY WORDS** — Non-small cell lung cancer, Gefitinib, Epidermal growth factor receptor, Gene mutation, Acquired resistance

Reprints: Akira Inoue, Department of Respiratory Medicine, Tohoku University Hospital, 1-1 Seiryochō, Aoba-ku, Sendai 980-8575, Japan.

Received July 17, 2008; accepted March 13, 2009.

**要旨** — **背景.** 上皮増殖因子受容体 (EGFR) チロシン キナーゼ阻害剤であるゲフィチニブは、活性型 EGFR

<sup>1</sup>東北大学大学院医学系研究科呼吸器病態学分野; <sup>2</sup>東北大学病院呼吸器内科; <sup>3</sup>弘前大学腫瘍内科.  
別刷請求先: 井上 彰, 東北大学病院呼吸器内科, 〒980-8575

仙台市青葉区星陵町 1-1.  
受付日: 2008 年 7 月 17 日, 採択日: 2009 年 3 月 13 日.

遺伝子変異を有する非小細胞肺癌患者に対して著明な抗腫瘍効果をもたらすが、後に生じる耐性化への対策は十分に検討されていない。方法. 2004年6月～2007年6月の間に、当施設で活性型EGFR遺伝子変異陽性と診断され、ゲフィチニブ治療が開始された進行非小細胞肺癌患者を対象に、増悪形式に関連した臨床的特徴をレトロスペクティブに解析した。結果. 51例にゲフィチニブ治療が行われ、奏効率、病勢制御率は各々71% (36/51)、86% (44/51)であった。病勢制御できた44例のうち、2008年4月末時点で33例に増悪を認め（無増悪生存期

間中央値14ヶ月）、21例は胸郭内、12例は遠隔臓器での増悪（うち10例は脳転移）であった。脳転移増悪例の過半数では放射線治療とともにゲフィチニブが3ヶ月以上継続され、生存期間中央値は28.2ヶ月と極めて良好であった。耐性遺伝子変異T790Mは全て原発巣近傍から検出された。結論. ゲフィチニブ治療例においては異なる増悪形式が認められ、それぞれの機序をふまえた治療法の開発が望まれる。

索引用語——非小細胞肺癌、ゲフィチニブ、上皮増殖因子受容体、遺伝子変異、耐性

## はじめに

肺癌は年間6万人を超える患者の死因であり、非小細胞肺癌はそのうちの約8割を占める。上皮増殖因子受容体 (epidermal growth factor receptor ; EGFR) のチロシンキナーゼ阻害剤 (tyrosine kinase inhibitor ; TKI) であるゲフィチニブは、非小細胞肺癌を対象とした初の分子標的薬として2002年に本邦で承認され、一部の患者群において著明な抗腫瘍効果をもたらした。<sup>1</sup> さらに現在では、ゲフィチニブの効果とEGFRの活性型変異（以下EGFR変異と略す）との関連性が明らかになり、EGFR変異に基づく個別化医療への展開も期待されている。<sup>2,5</sup> しかし、ゲフィチニブが奏効した患者でもほぼ全例において腫瘍の再増悪が認められ治療法の変更を余儀なくされることから、ゲフィチニブ耐性の病態解明と新たな治療法の開発が必要とされている。今回我々は、当科でEGFR変異を確認のうへゲフィチニブによる治療を行った患者群をレトロスペクティブに解析し、増悪形式を主とした臨床的特徴について検討した。

## 対象と方法

2004年6月から2007年6月の期間に、当科でEGFR変異(エクソン19における欠損型変異もしくはエクソン18, エクソン21における点突然変異L858R, L861Q, G719A, G719S)陽性を確認後、ゲフィチニブ治療を開始した進行非小細胞肺癌患者を対象とした。EGFR変異の有無は、ゲフィチニブ治療前の腫瘍サンプルを用いて当科におけるDNAダイレクトシーケンスもしくは埼玉医科大学におけるpeptide nucleic acid-locked nucleic acid (PNA-LNA) polymerase chain reaction (PCR) クランプ法<sup>6</sup>によって確認した。対象患者においては、ゲフィチニブの奏効率(治療効果判定はRECISTに準じた)、ゲフィチニブ治療開始後の無増悪生存期間(progression-free survival ; PFS)と増悪形式、全生存期

間についてレトロスペクティブに解析した。一部の患者においては、再増悪時にも胸水などから腫瘍サンプルを採取し、特に耐性型EGFR遺伝子変異として知られているT790M<sup>7,8</sup>の有無について確認した。

## 結果

上記期間にEGFR変異陽性が確認され、ゲフィチニブ治療を開始した患者は51例であった(Table 1)。対象患者の過半数は女性の非喫煙者であり、ほとんどが腺癌であった。対象症例の約3分の2において、ゲフィチニブが初回治療として用いられていたが、そのほとんどは前向き臨床試験登録例として患者の文書同意が得られていた。

ゲフィチニブの治療効果としては、36例がpartial response (PR)、8例がstable disease (SD)と判定され、奏効率は71%、病勢制御率(PR+SDの割合)は86%であった。性別や喫煙歴、年齢、EGFR変異型の違いや初回化学療法の有無による奏効率、病勢制御率の差は認められなかった。

上記のゲフィチニブにて病勢制御できた44例の患者を対象として、その後の増悪形式や予後についての検討を行った。2008年4月末の時点で33例に腫瘍の再増悪が認められ、PFS中央値は14.0ヶ月であった(Table 2)。初発の増悪部位は、胸郭内(肺原発巣増大、胸水・心嚢水など)が21例、脳や骨などの遠隔臓器が12例であった。増悪部位の違いによるPFSの差は認めなかった(Figure 1)。遠隔臓器における増悪のうち10例(83%)が脳転移であったが、その患者群と本解析全体での対象群との患者背景に特徴的な違いは認められなかった(Table 3)。興味深いことに、脳転移を認めた時点での肺原発巣の状態については、増悪を認めなかったものが8例、SD範囲での増悪を認めた例が2例であり、胸郭内病変については大半が制御されていた。

増悪後の治療については、胸郭内の増悪例では多くの

**Table 1.** Patient Characteristics

Age (years)	
Median	66
Range	33-82
Gender	
Male	14
Female	37
Smoking Status	
Smoker	11
Non-smoker	40
Histology	
Adenocarcinoma	50
Large cell carcinoma	1
Clinical Stage	
Stage IIIB	5
Stage IV	29
Post operative recurrence	17
Type of Mutation	
Exon 19 deletion	34
Point mutation	17
Chemotherapy Before Gefitinib	
Yes	15
No (1 <sup>st</sup> line gefitinib)	36

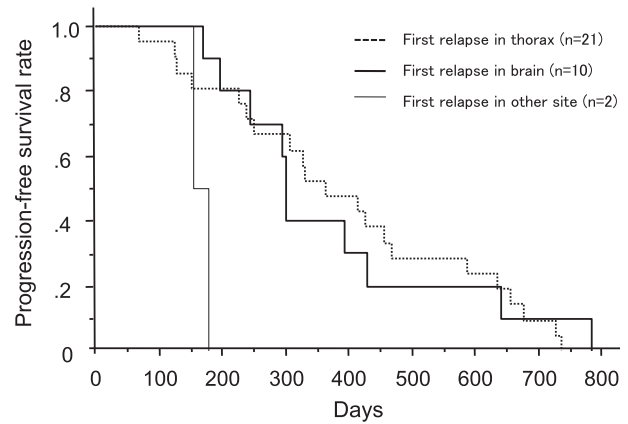
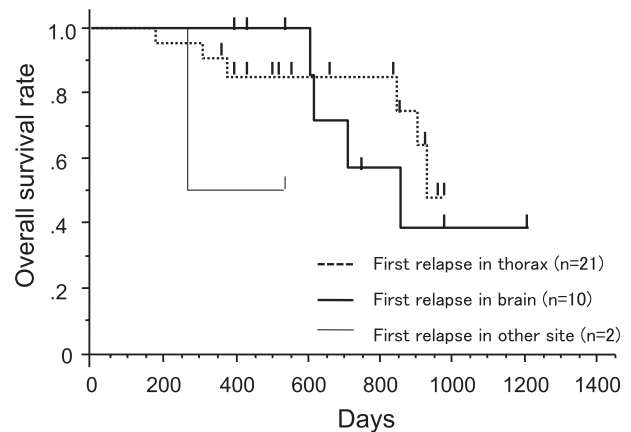
**Table 2.** First Relapse Site During the Gefitinib Treatment

Site	No. of patients	PFS (months)
All	33	14.0
Thoracic	21	12.0
Primary lung tumor	17	
Pleuritis carcinomatosa	3	
Pericarditis carcinomatosa	1	
Distant Metastasis	12	9.9
Brain	10	
Bone	1	
Peritonitis carcinomatosa	1	

PFS, progression-free survival after gefitinib treatment.

症例が3ヶ月以内にゲフィチニブから他の抗癌剤治療もしくはbest supportive careへ移行していたが(2例では患者の意思により増悪を承知でゲフィチニブが継続されていた), 脳転移増悪例では9例に対して脳への放射線治療(全脳照射7例, ガンマナイフ2例)が行われ, 全身治療としては6例でゲフィチニブがその後も3ヶ月以上継続されていた(最長は40ヶ月で2008年4月時点でもゲフィチニブ治療継続中)。

2008年4月末時点で, 51例中11例の死亡が確認され, 初発増悪部位別では胸郭内6例, 脳転移4例, その他(腹水)1例であった。ゲフィチニブ治療開始後からの生存期間中央値(median survival time; MST)は, 胸郭内増悪

**Figure 1.** Progression-free survival after gefitinib treatment according to the initial site of relapse.**Figure 2.** Overall survival after gefitinib treatment according to the initial site of relapse.

例で30.6ヶ月, 脳転移例で28.2ヶ月であった (Figure 2)。

ゲフィチニブ耐性に関連する T790M は, 増悪時に再検査を行った5例中3例に認められ, 2例は胸郭内再発病変(胸水および心嚢水), 1例は腹水の腫瘍サンプルからの検出であった。それらの3検体では, いずれもゲフィチニブ治療前に認められていた活性型 EGFR 変異も併せて確認された。

## 考 察

今回の我々の解析において, ゲフィチニブが奏効した患者群の再発形式は, 肺原発巣を含み全身性の増悪を呈する形式と, 脳転移を主とした局所増悪を呈する以外は病態が制御されている形式に大別された。前者では増悪以後のゲフィチニブの効果は期待できず, 全例が短期間のうちに後治療に移行しているのに対し, 後者では過半数の症例で増悪後も3ヶ月以上ゲフィチニブの治療継続

**Table 3.** Characteristics of Patients with First Relapse in Brain

Age	
Median	65
Range	46-75
Gender	
Male	2
Female	8
Smoking Status	
Smoker	3
Non-smoker	7
Clinical Stage	
Stage IV	7
Post operative recurrence	3
Type of Mutation	
Exon 19 deletion	5
Point mutation	5
Chemotherapy Before Gefitinib	
Yes	3
No (1 <sup>st</sup> line gefitinib)	7

がなされていた。従来の進行非小細胞肺癌に対する化学療法においても脳転移が再増悪の初発部位となることはあるが、化学療法の PFS 中央値が 4~5 ヶ月であることから、大部分の症例では同時期に全身性にも増悪を認め、転移巣に対する治療と全身治療がほぼ同時期に検討される。しかし EGFR-TKI 治療中の増悪例に対しては、新たな治療戦略を検討する必要があるかもしれない。

あくまで少数例の結果ではあるが、本研究において脳転移で初発の増悪を認めた患者群のゲフィチニブ治療開始後の MST は約 28 ヶ月（生存期間の範囲は 13~40 ヶ月）であり、一般的な脳転移を伴う進行非小細胞肺癌の予後（約 6 ヶ月）と比べて極めて長いことも、EGFR-TKI 治療中の脳転移が全身性の病態増悪の現れではないことを示唆する。胸郭内初発増悪例の MST も約 30 ヶ月と極めて長いことから、EGFR 変異陽性自体が予後良好因子となっている可能性は否定できないが、脳転移例は通常他の進行期よりも予後不良とされており、予後因子以外の要素も重要と考える。増悪後の脳転移のみが増悪しやすい機序は不明であるが、仮説としては血液脳関門の存在によって脳転移巣のみにゲフィチニブの移行が悪くなり、薬剤濃度不足により腫瘍制御が困難となる機序が考えられる。事実、ゲフィチニブ治療中の脳転移増悪症例に対して同剤よりも EGFR-TKI としての力価が高いとされるエルロチニブを投与した結果、脳転移病変が改善したとの症例報告がある（私信）。EGFR-TKI から他の殺細胞性抗癌剤への治療変更は、骨髄抑制や消化器毒性その他の新たな負担を患者に与えることになるため、全身性の病態増悪が確認されるまでは脳転移に対して放射線

治療で局所制御を図る治療戦略は意義があることと考える。

一方で、肺原発巣やその周辺での増悪（癌性胸膜炎、癌性心膜炎）をきたした症例は、現行治療での制御が困難となり全身性に病態が増悪したものと考えられる。EGFR-TKI 治療への腫瘍耐性化については未だ不明な点も多いが、これまでの報告からいくつかの異なる機序が示唆されている。その 1 つは T790M に代表される EGFR チロシンキナーゼ領域における耐性型遺伝子変異の出現であり、それらの耐性細胞においては、既存の EGFR-TKI では EGFR への結合が阻害され、以下のシグナル伝達を抑制できないことが基礎実験により示されている。<sup>7,8</sup> 我々の報告で T790M を認めたのはいずれも胸郭内増悪および癌性腹膜炎（肺原発巣は横隔膜に接しており腹腔内へ腫瘍が進展した可能性が高い）など、全身性の病態増悪例であったが、事実それらに対してはゲフィチニブ治療を継続する意義はないと考えられた。T790M の検出率は活性型 EGFR 変異と比べると低いとされることから、<sup>9</sup> 実際にはより多くの増悪症例で本機序が関与している可能性がある。増悪時の腫瘍サンプル採取は患者の同意取得が困難なことも多いが、以下に示すように増悪機序の違いによって、適切な治療戦略が異なってくる可能性もあるため、PNA-LNA PCR クランプ法などの高感度検査を用いて、患者に負担をかけずに胸水や喀痰などの腫瘍サンプルを得て、できるだけ情報収集に努めることが今後はより重要と思われる。

すなわち T790M が認められた場合は、現時点では他の殺細胞性抗癌剤への変更以外に選択肢はないが、腫瘍の EGFR シグナルへの依存性は残っていることから将来的には不可逆的 EGFR 阻害剤などが良い適応となるかもしれない。<sup>10</sup>

一方、EGFR 以外のシグナルが関与する例として、c-MET から ERBB3 を介した経路の活性化による増悪機序が近年報告されている。<sup>10</sup> これらの耐性細胞に対しては、EGFR 阻害剤のみでは制御が不十分であり、c-MET の阻害剤や同経路の下流分子である mTOR の阻害剤など、新たな分子標的薬の併用が効果的と推察されている。<sup>11,12</sup> いずれにせよ新たな治療戦略の有用性は、前向き臨床試験によって科学的に評価されることが必要である。

## 結 語

ゲフィチニブ治療が奏効した EGFR 変異陽性の進行非小細胞肺癌患者において、異なる増悪形式の存在が示唆された。それぞれの増悪形式の機序を踏まえた適切な治療戦略の開発が今後の課題である。

## REFERENCES

1. Fukuoka M, Yano S, Giaccone G, Tamura T, Nakagawa K, Douillard JY, et al. A multi-institutional randomized phase II trial of gefitinib for previously treated patients with advanced non-small-cell lung cancer (The IDEAL 1 Trial). *J Clin Oncol*. 2003;21:2237-2246.
2. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, Gurubhagavatula S, Okimoto RA, Brannigan BW, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med*. 2004;350:2129-2139.
3. Paez JG, Jänne PA, Lee JC, Tracy S, Greulich H, Gabriel S, et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science*. 2004;304:1497-1500.
4. Kosaka T, Yatabe Y, Endoh H, Kuwano H, Takahashi T, Mitsudomi T. Mutations of the epidermal growth factor receptor gene in lung cancer: biological and clinical implications. *Cancer Res*. 2004;64:8919-8923.
5. Inoue A, Suzuki T, Fukuhara T, Maemondo M, Kimura Y, Morikawa N, et al. Prospective phase II study of gefitinib for chemotherapy-naïve patients with advanced non-small-cell lung cancer with epidermal growth factor receptor gene mutations. *J Clin Oncol*. 2006;24:3340-3346.
6. Nagai Y, Miyazawa H, Huqun, Tanaka T, Udagawa K, Kato M, et al. Genetic heterogeneity of the epidermal growth factor receptor in non-small cell lung cancer cell lines revealed by a rapid and sensitive detection system, the peptide nucleic acid-locked nucleic acid PCR clamp. *Cancer Res*. 2005;65:7276-7282.
7. Kobayashi S, Boggon TJ, Dayaram T, Jänne PA, Kocher O, Meyerson M, et al. EGFR mutation and resistance of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med*. 2005;352:786-792.
8. Pao W, Miller VA, Politi KA, Riely GJ, Somwar R, Zakowski MF, et al. Acquired resistance of lung adenocarcinomas to gefitinib or erlotinib is associated with a second mutation in the EGFR kinase domain. *PLoS Med*. 2005;2:e73.
9. Mitsudomi T, Yatabe Y. Mutations of the epidermal growth factor receptor gene and related genes as determinants of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors sensitivity in lung cancer. *Cancer Sci*. 2007;98:1817-1824.
10. Engelman JA, Zejnullahu K, Gale CM, Lifshits E, Gonzales AJ, Shimamura T, et al. PF00299804, an irreversible pan-ERBB inhibitor, is effective in lung cancer models with EGFR and ERBB2 mutations that are resistant to gefitinib. *Cancer Res*. 2007;67:11924-11932.
11. Puri N, Khramtsov A, Ahmed S, Nallasura V, Hetzel JT, Jagadeeswaran R, et al. A selective small molecule inhibitor of c-Met, PHA665752, inhibits tumorigenicity and angiogenesis in mouse lung cancer xenografts. *Cancer Res*. 2007;67:3529-3534.
12. Kris MG, Riely GJ, Azzoli CG, Heelan RT, Krug LM, Pao W, et al. Combined inhibition of mTOR and EGFR with everolimus (RAD001) and gefitinib in patients with non-small cell lung cancer who have smoked cigarettes: A phase II trial. *Proc Am Soc Clin Oncol*. 2007;25:7575.