

ORIGINAL ARTICLE

上皮成長因子受容体 (EGFR) 遺伝子変異陽性非小細胞肺癌患者における耐性獲得時の T790M 変異検索の有用性

磯部和順¹・秦 美暢²・佐藤敬太¹・佐野 剛¹・杉野圭史¹・坂本 晋¹・高井雄二郎¹・渋谷和俊³・高木啓吾²・本間 栄¹

Clinical Significance of T790M After Acquiring Resistance to Gefitinib or Erlotinib in Non-small Cell Lung Cancer Patients with Epidermal Growth Factor Receptor Gene Mutation

Kazutoshi Isobe¹; Yoshinobu Hata²; Keita Sato¹; Go Sano¹; Keishi Sugino¹; Susumu Sakamoto¹; Yujiro Takai¹; Kazutoshi Shibuya³; Keigo Takagi²; Sakae Homma¹

¹Department of Respiratory Medicine, ²Department of Chest Surgery, ³Department of Surgical Pathology, Toho University Omori Medical Center, Japan.

ABSTRACT — **Objective.** To clarify the usefulness of assessing T790M status in non-small cell lung cancer patients with epidermal growth factor receptor (EGFR) gene mutations at the time of acquiring epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor (EGFR-TKI) resistance. **Methods.** Of 93 primary non-small cell lung cancer patients with EGFR mutations at the primary site treated in our institution over the last 6 years, 16 were assessed for the T790M mutation. The location and method of detecting T790M, frequency of this mutation, and response to a second EGFR-TKI were retrospectively analyzed. **Results.** The localization of EGFR mutations in the primary site was G719C in 1, G719C + L858R in 1, exon 19 deletion in 6, and L858R in 8, respectively. Locations of T790M were neck lymph nodes in 4 patients, mediastinal lymph node in 1, pleural effusion in 6, cerebrospinal fluid in 1, and lung tumor in 4. T790M was detected in 6 out of 16 cases (38%). The same EGFR mutations as in the primary site were detected in the other 10 cases. Eleven patients were treated with readministration of EGFR-TKI. Cases without T790M (n = 8) showed significantly longer progression-free survival (PFS) than those with T790M (n = 3) (median PFS: 15.0 months vs. 1.0 month, p = 0.009). **Conclusions.** Screening for T790M in non-small cell lung cancer at the time of acquiring EGFR-TKI resistance is useful for selecting patients who will respond to EGFR-TKI readministration.

(JJLC. 2012;52:279-283)

KEY WORDS — Non-small cell lung cancer, Epidermal growth factor receptor gene mutation, Resistant mutation T790M, EGFR tyrosine kinase inhibitor

Reprints: Kazutoshi Isobe, Department of Respiratory Medicine, Toho University Omori Medical Center, 6-11-1 Omori-nishi, Ota-ku, Tokyo 143-8541, Japan (e-mail: kazutoshiisobe@aol.com).

Received January 11, 2012; accepted May 21, 2012.

要旨 — **目的.** 上皮成長因子受容体 (EGFR) 遺伝子変異陽性非小細胞肺癌患者における EGFR チロシンキナーゼ阻害薬 (EGFR-TKI) 耐性獲得時の T790M 変異検索の有用性を明らかにする. **対象および方法.** 過去6年間に当センターで加療した EGFR 遺伝子変異陽性非小細胞肺癌患者 93 例中, 初回 EGFR-TKI 耐性獲得後

T790M 変異を検索した 16 例を対象とし, 患者背景, T790M 変異検索の検体採取部位・方法, T790M 変異の発現率, EGFR-TKI 再投与の効果について retrospective に検討した. **結果.** 原発巣の EGFR 遺伝子変異は G719C が 1 例, G719C + L858R が 1 例, exon 19 deletion が 6 例, L858R が 8 例. T790M 変異検索部位は頸部リン

東邦大学医療センター大森病院 ¹呼吸器内科, ²呼吸器外科, ³病理.

別刷請求先: 磯部和順, 東邦大学医療センター大森病院

呼吸器内科, 〒143-8541 東京都大田区大森西 6-11-1 (e-mail: kazutoshiisobe@aol.com).

受付日: 2012 年 1 月 11 日, 採択日: 2012 年 5 月 21 日.

パ節、肺が4例、縦隔リンパ節、髄液が各1例、胸水が6例。T790M変異は6例(38%)に検出され、残り10例では耐性獲得前と同じEGFR遺伝子変異が確認された。EGFR-TKIの再投与は11例に施行され、T790M変異陰性例(n=8)は陽性例(n=3)に比べ有意に無増悪生存期間(PFS)が延長し、EGFR-TKI再投与はT790M変異陰性例に有効であった(PFS中央値:15.0ヶ月 vs.

1.0ヶ月, $p=0.009$)。結語。EGFR遺伝子変異陽性非小細胞肺癌におけるEGFR-TKI耐性獲得時のT790M変異検索は、EGFR-TKI再投与の適応を検討する際の患者選択として有用であることが示唆された。

索引用語——非小細胞肺癌, 上皮成長因子受容体遺伝子変異, 耐性遺伝子 T790M 変異, EGFR-TKI

はじめに

上皮成長因子受容体(EGFR)遺伝子変異を持つ非小細胞肺癌患者はEGFRチロシンキナーゼ阻害薬(EGFR-TKI)に劇的な効果を示す。^{1,2}しかし、EGFR-TKI投与後、約1年で耐性を獲得することが知られている。^{3,4}この耐性獲得機序のうち、約半数に耐性遺伝子であるT790M変異が新たに出現することが報告されている。⁵⁻⁷今回、EGFR遺伝子変異陽性患者におけるEGFR-TKI耐性獲得時のT790M変異検索の有用性についてretrospectiveに検討した。

対象および方法

2005年1月から2011年5月まで当センターで加療したEGFR遺伝子変異陽性の非小細胞肺癌患者93例中、EGFR-TKIの投与後耐性を獲得し、T790M変異の有無を確認し得た16例を対象とした。EGFR-TKI投与後、既存病巣の径和が、それまでの最も小さい径和に比して20%以上大きくなった場合、または新病巣が出現した場

合をEGFR-TKI耐性と定義した。

患者背景、T790M変異検索の検体採取部位・方法、T790M変異の発現率、EGFR-TKI再投与の効果をretrospectiveに検討した。原発巣のEGFR遺伝子変異の検査法はdirect sequence法が2例、PCR clamp法が14例であった。T790M変異の検査法は全例cycleave法で行った。また、生存曲線はKaplan-Meier法で作成し、Wilcoxon検定を行い、5%未満を有意水準とした。

患者背景をTable 1に示す。初回EGFR-TKI治療期間中央値は16.3ヶ月(5~43ヶ月)であった。再発様式は既存病巣が増大したものが9例(原発巣増大:2例、リンパ節増大:5例、肺内転移増大:2例)、新病巣出現は7例(癌性胸膜炎:6例、癌性髄膜炎:1例)であった。本研究は東邦大学医療センター大森病院倫理委員会で承認されている。

結果

T790M変異検索部位をTable 2に示す。このうち、T790M変異は6例(38%)に検出され、それ以外の10例で耐性獲得前と同じEGFR遺伝子変異が確認された。T790M変異陽性6例の耐性獲得前のEGFR遺伝子変異はexon 19 deletion(19 del)が3例、L858Rが3例であった。この6例での再発病巣は既存病巣が5例(肺腫瘍:3例、頸部リンパ節:2例)と多く、新出病変は胸水の1例のみであった(Table 3)。また、初回EGFR-TKIの投与期間はT790M変異出現の有無において有意差は認められなかった(中央値:16.2ヶ月 vs. 11.0ヶ月, $p=0.18$)。

Table 1. Patient Characteristics (n = 16)

Age (median)	63.5 yrs (25-84 yrs)
Gender Male/Female	7/9
PS 0/1/2	6/6/4
Stage IV/Rec	10/6
Pathological type Ad/Sq	15/1
Smoking history	
Current/Former/Never	0/2/14
EGFR mutation in primary site	
G719C/19 del/G719C + L858R/L858R	1/6/1/8
Previous EGFR-TKI	
Gefitinib/Erlotinib	15/1
CR/PR/SD/PD	1/13/2/0

PS: performance status, Rec: recurrence after surgical resection, Ad: adenocarcinoma, Sq: squamous cell carcinoma, EGFR: epidermal growth factor receptor, L858R: exon 21 L858R, 19 del: exon 19 deletion, G719C: exon 18 G719C, EGFR-TKI: EGFR-tyrosine kinase inhibitor, CR: complete response, PR: partial response, SD: stable disease, PD: progressive disease.

Table 2. Location and Specimen's Sampling Method for Detecting T790M (n = 16)

Neck lymph node	4 (lymph node biopsy)
Mediastinal lymph node	1 (EBUS)
Pleural effusion	6 (thoracentesis)
Lung tumor	4 (TBB: 2, VATS: 1, CT biopsy: 1)
Cerebrospinal fluid	1 (lumbar puncture)

EBUS: endobronchial ultrasound, TBB: transbronchial tumor biopsy, VATS: video-assisted thoracoscopic surgery.

Table 3. Six Cases with Positive T790M

No.	EGFR mutation in primary site	Location of recurrence	Sampling method
1	19 del	Lung tumor (P)	TBB
2	19 del	Pleural effusion (N)	Thoracentesis
3	19 del	Neck lymph node (P)	Biopsy
4	L858R	Neck lymph node (P)	Biopsy
5	L858R	Lung tumor (P)	CT biopsy
6	L858R	Lung tumor (P)	VATS

P: pre-existing lesion, N: new lesion, TBB: transbronchial tumor biopsy, CT: computed tomography, VATS: video-assisted thorascopic surgery.

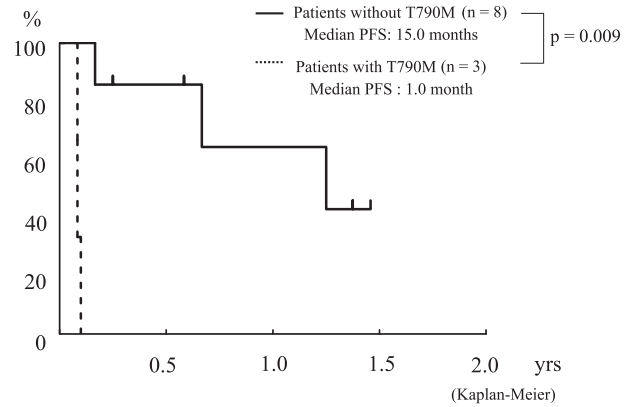
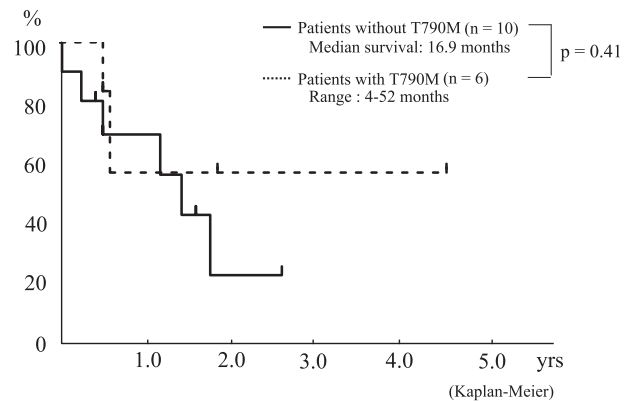
Table 4. Response to EGFR-TKI Readministration (n = 11)

Patients with T790M (n = 3)	
Gefitinib/Erlotinib	0/3
CR/PR/SD/PD	0/0/0/3
Patients without T790M (n = 8)	
Gefitinib/Erlotinib	3/5
CR/PR/SD/PD	0/0/7/1
RR	0%
DCR	88%
Duration*	6.6 ± 5.2 m (1-18 m)

EGFR-TKI: EGFR-tyrosine kinase inhibitor, CR: complete response, PR: partial response, SD: stable disease, PD: progressive disease, RR: response rate, DCR: disease control rate, m: months.

*The duration between the end of first EGFR-TKI and starting second EGFR-TKI.

耐性獲得後のEGFR-TKIの再投与は、T790M変異陽性3例およびT790M変異陰性8例の合計11例に施行されていた。T790M変異陽性3例の患者背景は年齢中央値68歳(50~82歳)、男性2例、女性1例、performance status(PS)は0が1例、1が2例、全例腺癌で、臨床病期はIV期が1例、術後再発が2例であった。原発巣のEGFR遺伝子変異は19 delが2例、L858Rが1例で、再投与までの期間中央値は4.0ヶ月(1~18ヶ月)であった。また、T790M変異陰性8例の再投与例の患者背景は年齢中央値59歳(26~84歳)、男性5例、女性3例、PSは0が4例、1が2例、2が2例、全例腺癌で、臨床病期はIV期が6例、術後再発が2例であった。原発巣のEGFR遺伝子変異はG719C+L858Rが1例、19 delが3例、L858Rが4例で、再投与までの期間中央値は5.2ヶ月(2~14ヶ月)であった。年齢、性別、PS、EGFR遺伝子変異、病期、再投与までの期間において両群に有意差は認められなかった。

**Figure 1.** Kaplan-Meier progression-free survival (PFS) after EGFR-TKI readministration. Cases without T790M (n = 8) had significantly longer PFS than those with T790M (n = 3) (median PFS: 15.0 months vs. 1.0 month, $p = 0.009$).**Figure 2.** Kaplan-Meier survival after acquiring EGFR-TKI resistance. There is no significant difference between cases without T790M (n = 10) and those with T790M (n = 6) ($p = 0.41$).

再投与直前の化学療法はcarboplatin + paclitaxelおよびgefitinibが3例ずつ、pemetrexedが2例、gemcitabine, vinorelbine, docetaxelが1例ずつであった。T790M変異陽性3例全例にerlotinibが投与されるも進行(PD)であった。また、T790M変異陰性8例にはgefitinibが3例、erlotinibが5例投与され、奏効率(RR)は0%、病勢制御率(DCR)は88%であった(Table 4)。T790M変異出現の有無でのEGFR-TKI再投与後の無増悪生存期間(PFS)は、T790M変異陰性例で有意に延長した(n = 11, PFS中央値15.0ヶ月 vs. 1.0ヶ月, $p = 0.009$) (Figure 1)。しかし、EGFR-TKI耐性後の予後においてT790M変異陽性症例(n = 6)と陰性症例(n = 10)におけるEGFR-TKI耐性後の生存期間には有意差は認められなかった($p = 0.41$) (Figure 2)。また、T790M変異陽性症例(n = 6)と陰性症例(n = 10)における全生存期間

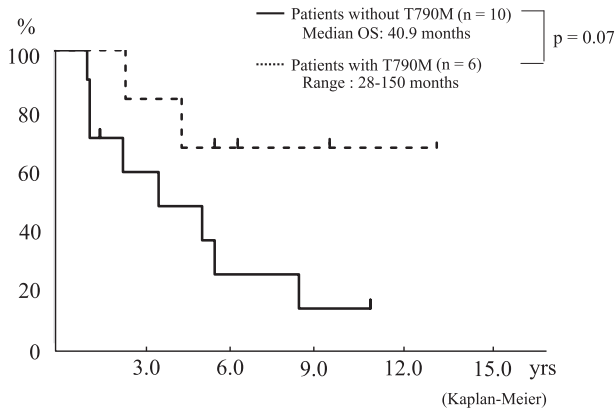


Figure 3. Kaplan-Meier overall survival (OS). There is no significant difference between cases without T790M (n = 10) and those with T790M (n = 6) (p = 0.07).

(OS)においても有意差は認められなかった (OS中央値: 未到達 vs. 40.9 ヶ月, p = 0.07) (Figure 3).

考 察

EGFR 遺伝子変異陽性非小細胞肺癌における EGFR-TKI 耐性獲得の機序については, T790M 変異が約 50% で, 他の機序として, MET 遺伝子の増幅, 肝細胞増殖因子の過剰発現などが報告されている.^{5,8,9} しかし, 臨床現場において, 再発病巣の組織を再生検し EGFR-TKI の全ての耐性機序を解明することは非常に困難である. 本検討では, 検出感度の異なる EGFR 遺伝子変異検出法が混在しているが, 6/16 例 (38%) に T790M 変異を認め, 報告された検出頻度^{5,8,9} と比較し低頻度であった.

Oxnard ら¹⁰ は T790M 変異出現が新出病巣より既存病巣に有意に高頻度であり, T790M 変異陽性症例の方が陰性症例よりも, EGFR-TKI 耐性後の生存期間が良好であったことを報告している. この理由として, T790M 変異陽性症例は遠隔転移せず, 緩徐に進行する臨床的特徴を有すると指摘している.⁹ 本検討でも, T790M 変異を認めた 6 例中 5 例 (83%) は再増大した既存病巣からの検出であった. 本検討の全体解析では T790M 変異出現の有無で EGFR-TKI 耐性出現後の生存期間や OS に有意差は認められなかった. しかしながら, 本検討では症例数が少ないため, 統計学的な意義は低く, 今後の症例の蓄積が必要である.

また, 治療経過中の EGFR 遺伝子変異のモニタリングとして非侵襲的な方法も考えられている. Maheswaran ら¹¹ は, 低速の層流を用いたマイクロチップ法と Scorpion-ARMS 法によって, 12 例中 11 例 (92%) で循環腫瘍細胞から T790M 変異を含めた EGFR 遺伝子変異の変異アレル検出が可能であったことを報告している.

さらに, Goto ら¹² は IRESSA Pan-Asia Study において, 治療前の 94 例の原発巣と 194 例の血清の遊離 DNA からの EGFR 遺伝子変異を検討している. その中で血清遊離 DNA からの EGFR 遺伝子変異の偽陰性は 56.9% と高いものの, 偽陽性は認められず陽性的中率は 100% であったことが報告されている. 症例によっては EGFR-TKI 耐性獲得時に再発病巣からの検体採取が困難な際に, 血液検体による T790M 変異検索が有用な場合もあると思われる. さらに, 血液検体から T790M 変異を超高感度に検出する方法も報告されており,^{13,14} EGFR 遺伝子変異のモニタリングに適した非侵襲的な方法の臨床応用が期待される.

Asahina ら¹⁵ は T790M 変異を含めた EGFR-TKI の耐性機序別に選択されていない EGFR 遺伝子陽性非小細胞肺癌における gefitinib 再投与の臨床第 II 相試験を報告し, DCR が 45%, PFS が 2.5 ヶ月と報告している. さらに, Song ら¹⁶ も T790M 変異を含めた EGFR-TKI 耐性機序が未検出である非小細胞肺癌において gefitinib 耐性後の erlotinib 治療では DCR が 35%, PFS が 31 日であったことを報告している. いずれの報告も, EGFR-TKI の初回治療と比べ治療成績は悪い. 本検討では, T790M 変異陰性症例の EGFR-TKI 再投与後の PFS 中央値は 15.0 ヶ月, DCR は 88% であり, 陽性症例 (PFS 中央値: 1.0 ヶ月, DCR: 0%) より有意に良好であった.

以上より, T790M 変異が EGFR-TKI 耐性獲得時に存在しなければ, 休薬後に EGFR-TKI を再投与することで, 予後が延長する可能性が示唆された. これは, EGFR-TKI の耐性機序の中には, T790M 変異のような不可逆性のものもあるが, EGFR-TKI 休薬後に感受性が回復するような可逆性の耐性機序もある可能性が考えられる. 今後, EGFR-TKI 後の治療戦略の確立のためには, EGFR-TKI の耐性機序別に患者選択をした上での, 前向き臨床試験が必要である.

本論文内容に関連する著者の利益相反: なし

REFERENCES

1. 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.
2. Paez JG, Janne 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.
3. Sequist LV, Bell DW, Lynch TJ, Haber DA. Molecular predictors of response to epidermal growth factor receptor antagonists in non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.*

- 2007;25:587-595.
4. Rosell R, Moran T, Queralt C, Porta R, Cardenal F, Camps C, et al. Screening for epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *N Engl J Med.* 2009;361:958-967.
 5. Sequist LV, Waltman BA, Dias-Santagata D, Digumarthy S, Turke AB, Fidias P, et al. Genotypic and histological evolution of lung cancers acquiring resistance to EGFR inhibitors. *Sci Transl Med.* 2011;3:75ra26.
 6. 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.
 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. Engelman JA, Zejnullahu K, Mitsudomi T, Song Y, Hyland C, Park JO, et al. MET amplification leads to gefitinib resistance in lung cancer by activating ERBB3 signaling. *Science.* 2007;316:1039-1043.
 9. Yano S, Yamada T, Takeuchi S, Tachibana K, Minami Y, Yatabe Y, et al. 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.* 2011;6:2011-2017.
 10. Oxnard GR, Arcila ME, Sima CS, Riely GJ, Chmielecki J, Kris MG, et al. Acquired resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors in EGFR-mutant lung cancer: distinct natural history of patients with tumors harboring the T790M mutation. *Clin Cancer Res.* 2011;17:1616-1622.
 11. Maheswaran S, Sequist LV, Nagrath S, Ulkus L, Brannigan B, Collura CV, et al. Detection of mutations in EGFR in circulating lung-cancer cells. *N Engl J Med.* 2008;359:366-377.
 12. Goto K, Ichinose Y, Ohe Y, Yamamoto N, Negoro S, Nishio K, et al. Epidermal growth factor receptor mutation status in circulating free DNA in serum: from IPASS, a phase III study of gefitinib or carboplatin/paclitaxel in non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2012;7:115-121.
 13. Nakamura T, Sueoka-Aragane N, Iwanaga K, Sato A, Komiya K, Abe T, et al. A noninvasive system for monitoring resistance to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors with plasma DNA. *J Thorac Oncol.* 2011;6:1639-1648.
 14. Taniguchi K, Uchida J, Nishino K, Kumagai T, Okuyama T, Okami J, et al. Quantitative detection of EGFR mutations in circulating tumor DNA derived from lung adenocarcinomas. *Clin Cancer Res.* 2011;17:7808-7815.
 15. Asahina H, Oizumi S, Inoue A, Kinoshita I, Ishida T, Fujita Y, et al. Phase II study of gefitinib readministration in patients with advanced non-small cell lung cancer and previous response to gefitinib. *Oncology.* 2010;79:423-429.
 16. Song ZB, Yu YF, Chen ZW, Lu S. Erlotinib as a salvage treatment for patients with advanced non-small cell lung cancer after failure of gefitinib treatment. *Chin Med J.* 2011;124:2279-2283.