

## INVITED REVIEW ARTICLE

## EGFR 肺癌の基礎的理解と臨床

安田浩之<sup>1</sup>

## Basic Understandings of EGFR-mutated Lung Cancer and Its Clinical Applications

Hiroyuki Yasuda<sup>1</sup><sup>1</sup>Division of Pulmonary Medicine, Keio University, School of Medicine, Japan.

**ABSTRACT** — In 2004, several groups reported the correlation between EGFR mutations and sensitivity to EGFR tyrosine kinase inhibitors (EGFR-TKIs). Since then, multiple EGFR-TKIs have been developed, improving the prognosis of advanced EGFR-mutated lung cancer patients. However, most patients with advanced EGFR mutation-positive lung cancer die of lung cancer in less than five years, highlighting the need for the further development of effective therapies. To develop effective inhibitors or treatment strategies, a basic understanding of EGFR-mutated lung cancer is essential. In particular, the knowledge of how EGFR mutations activate EGFR kinase and how sensitivity to EGFR-TKIs is determined is important. In this review, I will summarize the knowledge and propose clinical insight on how to translate this basic knowledge into a clinical setting.

(JLCC. 2021;61:911-918)

**KEY WORDS** — Epidermal growth factor receptor, Activation mechanism, Enzyme activity, Drug sensitivity

Corresponding author: Hiroyuki Yasuda.

**要旨** — 2004年に複数のグループから、上皮細胞増殖因子受容体 (epidermal growth factor receptor: EGFR) 遺伝子変異と EGFR チロシンキナーゼ阻害薬 (EGFR tyrosine kinase inhibitor: EGFR-TKI) の感受性の関連が報告された。それ以降、EGFR-TKI の開発と臨床試験での有効性の検証を経て EGFR 遺伝子変異陽性肺癌患者の予後は急速に改善した。このため、臨床現場では、EGFR 肺癌は「解決された課題」のようにとらえられることがあるが、依然として EGFR 遺伝子変異陽性肺癌患者の多くは肺癌の進行によって死亡しており、初期耐性、獲得耐性の問題など克服すべき課題は多く残されている。今後 EGFR 遺伝子陽性肺癌患者の予後を改善するに

は、さらなる EGFR 肺癌の生物学的理解が必須である。EGFR はチロシンキナーゼという酵素であり、この酵素活性の亢進が発癌に関わっている。EGFR 遺伝子変異陽性肺癌の本質的理解を深めるには、酵素としての EGFR と遺伝子変異の関係を理解することが重要である。本稿では、EGFR 遺伝子変異陽性肺癌の基礎的理解を深めるため、酵素としての EGFR に注目し、報告されている EGFR の活性化機序、薬剤感受性決定機序などを概説する。また、これら基礎的知見を踏まえた上で臨床応用に関わる知見を、自験例を含めて解説したい。

**索引用語** — 上皮細胞増殖因子受容体、活性化機構、酵素活性、薬剤感受性

## 1. はじめに

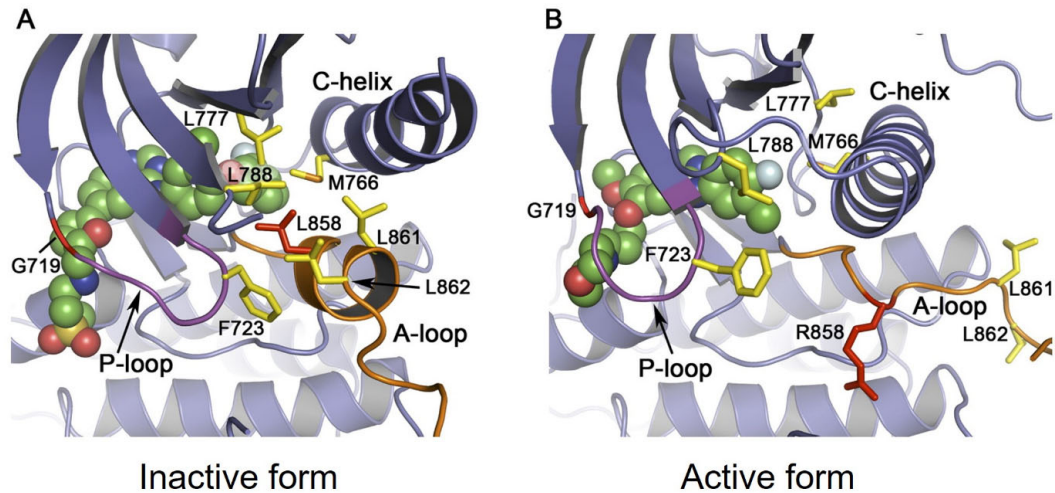
EGFR はその名の通り上皮細胞の増殖因子受容体であり、上皮細胞の増殖異常が基本的特徴である「癌」の原因遺伝子の1つとして古くから考えられてきた。肺癌領域でも EGFR を標的として ISEL 試験<sup>1</sup>が行われたが、

残念ながら non-selected population では有効性が報告されなかったことは多くの先生方のよく知るところである。

時代を変えたのは、2004年に複数のグループから報告された EGFR チロシンキナーゼドメインの活性化変異と、EGFR-TKI の感受性に関わる報告<sup>2,4</sup>である。以降、

<sup>1</sup>慶應義塾大学医学部呼吸器内科。

論文責任者: 安田浩之。



**Figure 1.** Structures of inactive and active EGFR. (A) Inactive EGFR in complex with lapatinib. (B) Active EGFR in complex with gefitinib (ref: Yun CH et al. 2007, Cancer Cell).

IPASS 試験で EGFR 変異陽性肺癌に限れば EGFR-TKI が有効であることが初めて証明され、<sup>5</sup> 製薬企業を中心とした EGFR-TKI の活発な開発活動、臨床試験による有効性の検証を経て、複数の EGFR-TKI が臨床で使用可能になっている。

肺癌診療ガイドラインでも EGFR 遺伝子変異陽性肺癌に対する EGFR-TKI の使用が推奨されており、臨床現場でもその強力な効果を実感することが多い。ややもすると「EGFR 遺伝子変異陽性肺癌には EGFR-TKI」というパターン化された治療が行われ、現場の医師にとっては治療選択に困らない肺癌と認識されている部分も散見される。このようなことから EGFR 遺伝子変異陽性肺癌は“克服された課題”と誤解されてしまうこともあるが、進行期 EGFR 遺伝子変異陽性肺癌患者の多くは肺癌の進行によって死亡しており、その患者数の多さからも EGFR 遺伝子変異陽性肺癌は、依然として肺癌領域における克服すべき大きな課題であることは間違いない。

今後さらに EGFR 遺伝子変異陽性肺癌患者の予後を改善するには、有効な治療薬や治療方法の開発が必須であるが、そのためには EGFR 遺伝子変異陽性肺癌の生物学的理解が必須である。また、耐性獲得の際や副作用マネジメント、臨床試験結果の解釈など、患者を診療する臨床医にとっても EGFR 肺癌の基礎的理解は重要である。

EGFR はチロシンキナーゼという「酵素」の 1 つであり、そのキナーゼ活性の亢進が、MAPK 経路や PI3K 経路など下流シグナルの異常な興奮へとつながり発癌に寄与することが知られている。EGFR 肺癌の基礎的理解のためには、酵素としての EGFR を理解することが本質的であり重要である。

本稿では、前半部分で「酵素としての EGFR」に注目し、肺癌で認められる EGFR 遺伝子変異がどのように EGFR を活性化するのか、EGFR-TKI の感受性がどのように決定するのかについて、過去の文献を参考に概説する。後半部分では、これら基礎的知識を診療にどのように応用するかを自験例を含めて解説したい。

## 2. 酵素としての EGFR

EGFR の酵素活性の調節は生物学的に重要であり、生理的条件下では高度なレベルで制御されている。EGFR は、組織構築あるいは損傷時などの必要時に EGF などのリガンド刺激を受け 2 量体を形成し、酵素として活性化する。<sup>6</sup> 活性化した EGFR は下流シグナルを活性化し、細胞増殖などのフェノタイプをもたらす。

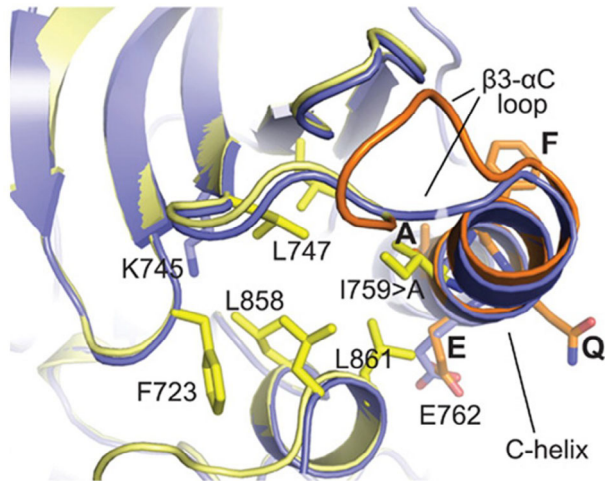
EGFR も他のキナーゼ同様、活性体・不活性体の 2 つのフォームが存在し、「活性体と不活性体の平衡状態のバランス」によって酵素活性が決定されている。<sup>7</sup> 活性体・不活性体の構造学的特徴としては、EGFR キナーゼドメインに存在する C-helix というらせん状構造が重要である。活性体では C-helix が ATP binding pocket の内側を向いて (C-helix in)、不活性体では外側を向いており (C-helix out)、酵素活性の決定に重要な構造であることが結晶構造解析によって明らかにされている (Figure 1)。今までに複数の EGFR 遺伝子変異について活性化メカニズムに関する構造学的解析が行われており、次項で概説したい。

## 3. EGFR 遺伝子変異はどのように EGFR を活性化するのか

肺癌における EGFR 遺伝子変異が酵素としての

**Table 1.** Activation Mechanism of EGFR Mutants

EGFR mutation	Activation mechanisms
L858R	Destabilization of inactive form due to destruction of hydrophobic residue bond
L861Q	Destabilization of inactive form due to destruction of hydrophobic residue bond
G719S	Destabilization of inactive form due to destruction of hydrophobic residue bond
Exon 19 insertions	Destabilization of inactive form due to destruction of hydrophobic residue bond
Exon 19 deletions	Stabilization of active form
A763_Y764insFQEA	Destabilization of inactive form due to destruction of hydrophobic residue bond
D770_N771insNPG	Destabilization of inactive form due to conformational change of C-helix

**Figure 2.** Activation mechanism of EGFR A763\_Y764insFQEA (ref. Yasuda H et al. *Science Transl Med.* 2013).

EGFR をどのように活性化するのかについては、主に結晶構造解析により解明されている。今までに報告されている活性化機序を Table 1 にまとめた。

肺癌における遺伝子変異で最もその活性化メカニズムが解明されているのは L858R である。構造学的には、L747, I759, L858, L861 の 4 つの疎水性アミノ酸が形成する hydrophobic residue bond が EGFR の不活性体を維持する上で重要な構造であることが知られている。<sup>8,9</sup> これら 4 つの疎水性アミノ酸は互いに干渉し、不活性体の構造を安定化し維持する働きをしている。つまり、この 4 つのアミノ酸が形成する“結合の輪”は不活性体の構造を維持する重要な構造であり、この破壊は不活性体の不安定化をもたらすことが知られている。

L858R ではこの 4 つのアミノ酸のうちの L858 がアルギニン (R) に置換されることで hydrophobic residue bond の破壊が起こり不活性体の維持が困難となり、相対的に活性体優位になる。<sup>8</sup> Uncommon mutation の 1 つである L861Q も同様に、hydrophobic residue bond を形成する L861 が置換されることで hydrophobic residue

bond が破壊され、不活性体の不安定化を介して活性化する。<sup>8</sup> G719S についても結晶構造解析が行われており、L858R 同様の機序で活性化することが報告されている。<sup>8</sup>

EGFR exon 19 deletion に関しては、現在までに結晶構造解析は報告されていない。このためあくまでシミュレーションでの予測になるが、Tamirat らは、exon 19 のアミノ酸の欠失によって、活性体における C-helix の構造的安定化によって活性体優位になり活性化すると報告している。<sup>10</sup>

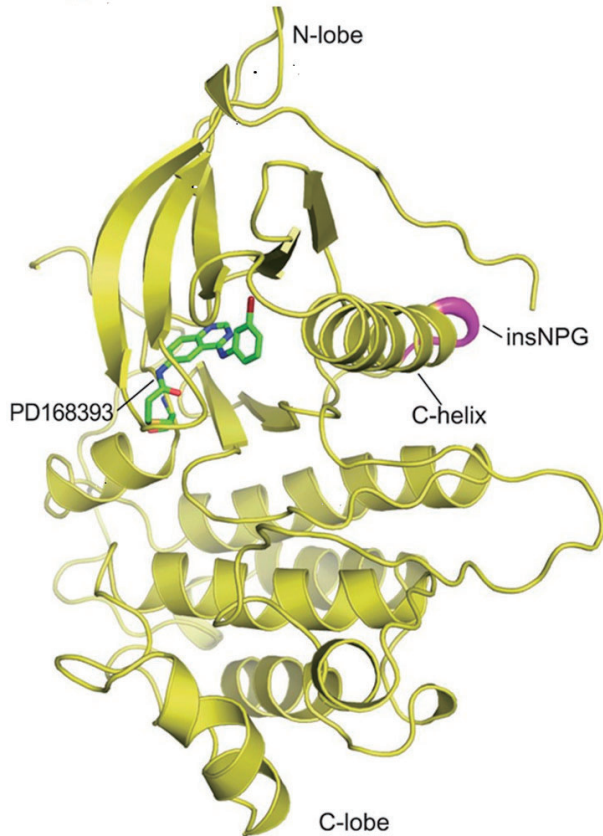
我々は EGFR exon 20 挿入遺伝子変異のうち A763\_Y764insFQEA に関する構造シミュレーション解析を行った。その結果、FQEA の 4 つのアミノ酸が挿入されることで I759 の位置がアラニン (A) に置換され、この挿入遺伝子変異においても L858R 同様 hydrophobic residue bond の破壊によって活性化することを報告した (Figure 2)。<sup>9</sup> また我々は、EGFR exon 20 挿入遺伝子変異の N770\_D771insNPG に対して結晶構造解析を用いてその活性化メカニズムを明らかにした。この変異においては、挿入される 3 つのアミノ酸は C-helix の“pivot point”に存在し、C-helix を内側に押すことで C-helix out の構造がとりにくくなり、不活性体の不安定化を介して活性化することが明らかになった (Figure 3)。<sup>9</sup> 他の EGFR exon 20 挿入遺伝子変異についても、同様の部位にアミノ酸の挿入が起こることにより C-helix out 構造がとりにくくなり、不活性体が不安定化することで活性化することが推察されるが、各変異の詳細な解析は行われていない。

このように、複数の EGFR 遺伝子変異が不活性体と活性体の平衡を相対的に活性体優位にすることで EGFR を活性化することがわかる。近年、次世代シーケンサーを用いた解析により多様なマイナー変異が同定されているが、これらがどのようなメカニズムによって EGFR を活性化するのかについては詳細な解析は存在しない。

このように酵素が活性化する機序を理解する上で結晶構造解析は強力なツールとなるが、実際に変異した酵素自体がどの程度酵素活性を上げるのかの評価には、EGFR タンパクを用いた酵素活性解析が必要である。

L858R は野生型 (wild type) に比べて 30~50 倍程度酵素活性を上げることが報告されている.<sup>8,9,11</sup> 一方, G719S は, wild type の 10 倍程度の活性化レベルであると報告されている.<sup>8</sup> 我々のグループでは, EGFR exon 20 挿入遺伝子変異のうち A763\_Y764insFQEA および D770\_N771insNPG の酵素活性解析を行い, これらの変異でそれぞれ wild type に比べて 8.9 倍, 4.9 倍程度の酵素活性の上昇を認めた (Table 2).<sup>9</sup>

今までの解析では, EGFR exon 20 挿入遺伝子変異や



**Figure 3.** Activation mechanism of EGFR D770\_N771insNPG (ref. Yasuda H et al. Science Transl Med. 2013).

G719S 変異などの uncommon mutation では L858R に比べて酵素活性が低いことが報告されている. ここからは, これら uncommon 遺伝子変異では酵素活性が L858R に比較して相対的に低く, ドライバーとしてのポテンシャルも相対的に低いことが想定はされる. しかし, 酵素活性の強弱が癌細胞の増殖能力, 肺癌の進行速度, 患者予後などに関連するのかについては明らかではない.

#### 4. EGFR-TKI の感受性はどのように決定するのか

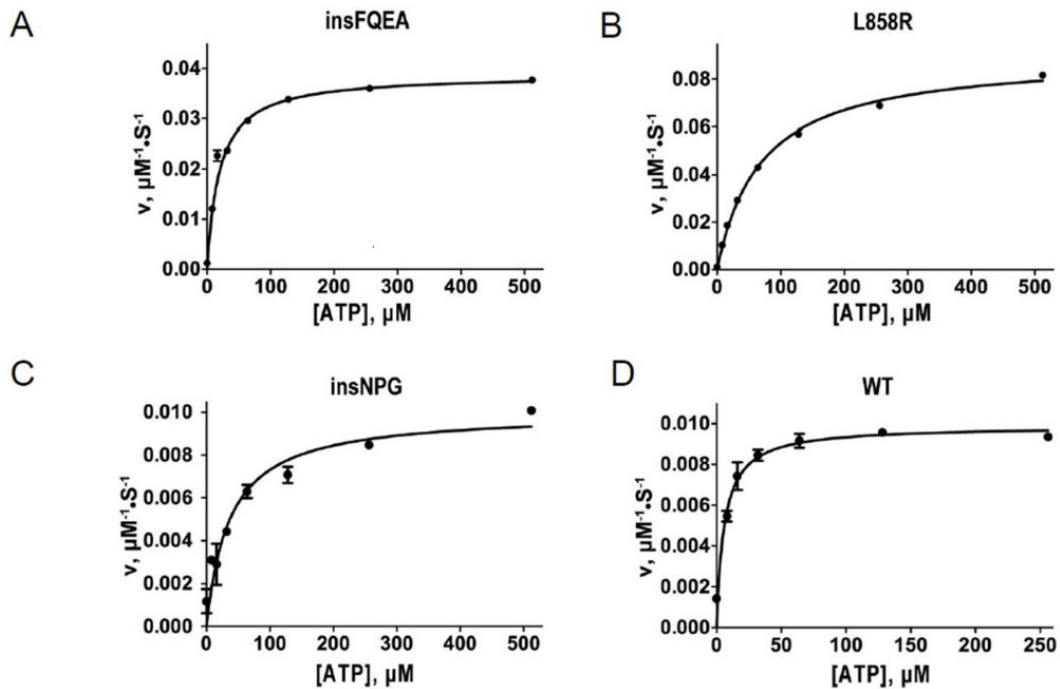
EGFR 遺伝子変異陽性肺癌患者の治療を行う上で, EGFR-TKI の感受性がどのように決定するのかを理解するのは重要である. 現在までに臨床で使用される第 1~3 世代 EGFR-TKI は ATP 競合型阻害薬である. つまり, これは EGFR-TKI と ATP が EGFR チロシナーゼドメインの ATP binding pocket を占拠すべく競合していることを意味しており, EGFR-TKI と ATP の EGFR への親和性の相対的なバランスが薬剤感受性を決定することを意味する. たとえていうなら ATP binding pocket をめぐって, 薬剤と ATP が“椅子取りゲーム”をしているといえる.

この相対的なバランスを定量評価するものとして,  $K_mATP$  および  $K_i$  (阻害定数) もしくは  $K_d$  (解離定数) という数値が存在する.  $K_mATP$  は, ATP に対するミカエリス定数であり, *in vitro* で酵素 (この場合 EGFR) に ATP 濃度を上げていった場合の曲線において, 最大酵素速度の 50% の酵素活性に至る ATP の濃度である (Figure 4). 難解なように聞こえるが, 単純にいえばこの値が低いほど ATP の EGFR への親和性が高いことを意味する.  $K_i$  は阻害定数であり, 酵素活性を 50% 抑制する薬剤の濃度である. この値が低いほど薬剤の EGFR への親和性が高いことを意味する.

EGFR-TKI の薬剤感受性を決定するのは, EGFR-TKI と ATP の相対的な親和性のバランスである. つまり, 定量化する上では,  $K_mATP$  と  $K_i$  あるいは  $K_d$  との比 ( $K_i/K_mATP$  もしくは  $K_d/K_mATP$ ) が重要になる. Table 3 に今までに報告されている各 EGFR 遺伝子変異におけ

**Table 2.** Enzymatic Activity of EGFR Mutants

Kinase Fold Activity				
Wild-type	L858R	G719S		Ref
1	51.3	10.8		Yun CH et al. Cancer Cell. 2007
Wild-type	L858R	T790M	L858R + T790M	Ref
1	57.1	5.27	17.5	Yun CH et al. PNAS. 2008
Wild-type	L858R	A763_Y764insFQEA	D770_N771insNPG	Ref
1	33.1	8.9	4.9	Yasuda H et al. Science Transl Med. 2013



**Figure 4.** Determination of the Michaelis constant for ATP ( $K_m[\text{ATP}]$ ) for EGFR mutants (ref: Yasuda H et al. Science Transl Med. 2013).

**Table 3.** Enzyme Kinetic Parameters of Wild-type and Mutant EGFR

EGFR kinase	$K_m[\text{ATP}]$ ( $\mu\text{M}$ )	$K_d$ (gefitinib)	$K_d/K_m[\text{ATP}]$	Ref
Wild-type	6.9	53.5	7.75	Yun CH et al. Cancer Cell. 2007
L858R	31.5	2.6	0.08	
G719S	94.7	123.6	1.31	
EGFR kinase	$K_m[\text{ATP}]$ ( $\mu\text{M}$ )	$K_d$ (gefitinib)	$K_d/K_m[\text{ATP}]$	Ref
Wild-type	5.2	35.3	6.79	Yun CH et al. PNAS. 2008
T790M	5.9	4.6	0.78	
L858R	148	2.4	0.02	
L858R + T790M	8.4	10.9	1.29	
EGFR kinase	$K_m[\text{ATP}]$ ( $\mu\text{M}$ )	$K_i$ (gefitinib)	$K_i/K_m[\text{ATP}]$	Ref
Wild-type	4.98	16.4	3.29	Yasuda H et al. Science Transl Med. 2013
L858R	68.5	6.4	0.09	
D770_N771insNPG	36.8	25.7	0.69	
A736_Y764insFQEA	19.2	2.5	0.13	

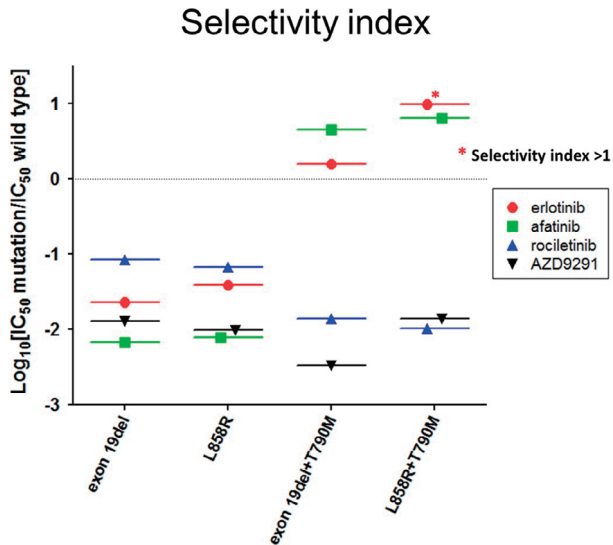
る EGFR-TKI の  $K_m[\text{ATP}]$  および  $K_i$  あるいは  $K_d$  を示す。

臨床医としては、EGFR-TKI と EGFR の親和性に注目が行きがちであるが、重要なのは薬剤の感受性が、EGFR-TKI と ATP との親和性の相対的なバランスによって決定することを理解することである。つまり、EGFR-TKI の“椅子取りゲーム”の相手方である ATP との相対的な親和性の違いが、薬剤感受性を理解する上で重要である。

この ATP の親和性の重要性を示す上で有名なのは

EGFR T790M 変異である。EGFR T790M は第 1~2 世代 EGFR-TKI 耐性の変異であるが、この耐性化機序としては、gate keeper である 790 番目のスレオニンがサイズの大きいメチオニンに置換されることで EGFR-TKI の ATP binding pocket への親和性が低下することが当初原因として考えられていた。

酵素レベルで薬剤感受性の低下を考える場合、①薬剤の EGFR への親和性の低下、②ATP の EGFR への親和性の亢進、の 2 つの場合が考えられる。Yun らのグルー



**Figure 5.** Calculated values of the selectivity index (SI) for EGFR mutations, exon 19 deletion, L858R, exon 19 deletion + T790M, and L858R + T790M. \*SI index >1 (ref: Hirano T et al. Oncotarget. 2015).

ブでは、EGFR T790M に対する ATP と EGFR-TKI の感受性を評価した。その結果、EGFR T790M の耐性化の原因が、EGFR-TKI の親和性低下よりも、ATP の親和性亢進がメインの機序であることを明らかにした。<sup>11</sup> つまり EGFR T790M では、EGFR-TKI の親和性の低下よりもむしろ椅子取りゲームの相手方である ATP の親和性が著しく亢進することが原因であると報告している。実際に Table 3 をみると、T790M 変異によって EGFR-TKI の親和性の低下が 4.5 倍程度であるのに対して、ATP の親和性の亢進は 17.6 倍となっており、ATP の EGFR への親和性亢進が耐性化機序のメインであることがわかる。

この椅子取りゲームの中で ATP の親和性の亢進をうまくブロックしたのが第 3 世代 EGFR-TKI の osimertinib であり、C797 との共有結合により非可逆的に ATP binding pocket を占拠することで、その効果を発揮している。

ちなみに KmATP はミカエリス・メンテン式が成り立つ状況下での数値であり、osimertinib など不可逆的阻害薬には適応できないことは注意が必要である。

Table 3 に示した通り、Kd/KmATP あるいは Ki/KmATP の値は、野生型と比べて感受性遺伝子変異では数値が小さくなっていることがわかる。この野生型と変異型の数値の差が酵素レベルで考えた場合の therapeutic window である。

一方、D770\_N771insNPG など耐性化変異では Ki/KmATP の値は野生型と同等であり、therapeutic win-

dow が狭くなっていることがわかる。

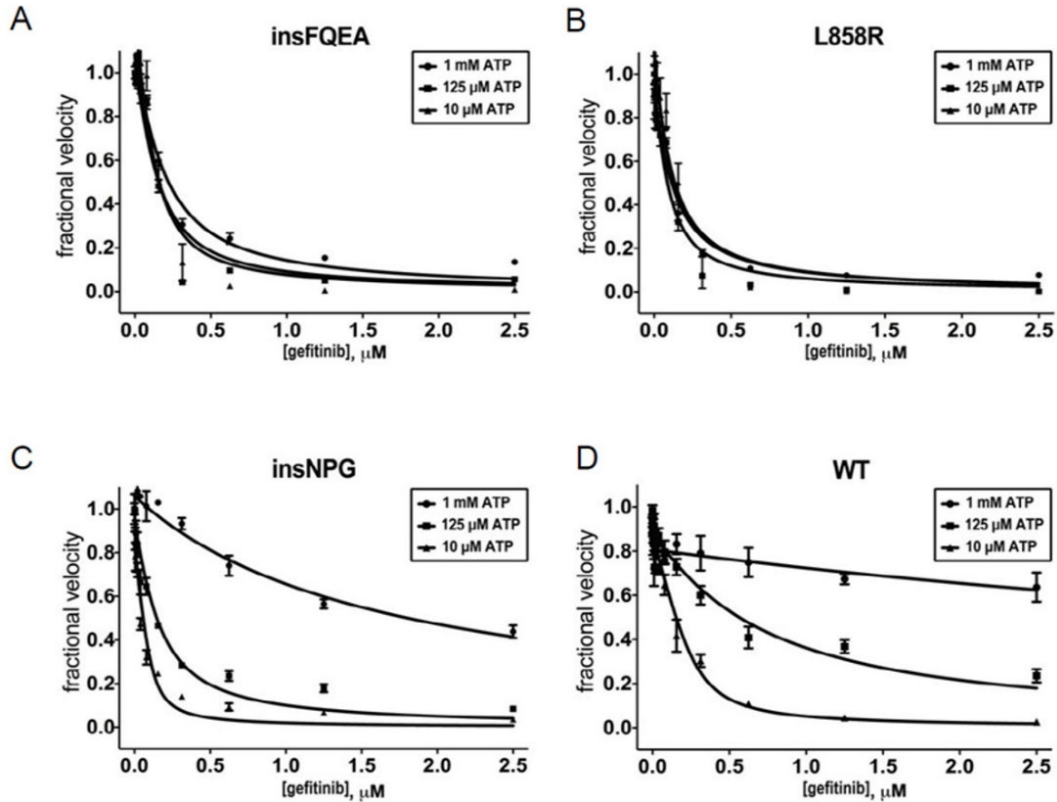
このように EGFR-TKI の感受性を考えるとき、ATP との競合状態を認識することが大事である。

## 5. EGFR に関わる基礎知識の臨床応用

EGFR-TKI を投与する際、皮疹、下痢、肝機能障害、間質性肺炎などの副作用に注意が必要なのは広く知られている。特に皮疹や下痢などの副作用が生じるメカニズムとして、EGFR-TKI が皮膚や消化管に存在する上皮細胞の野生型 EGFR を阻害してしまうことで生じると考えられている。この点で変異型 EGFR と野生型 EGFR の感受性の差である therapeutic window を評価することは重要である。上記では酵素レベルでの therapeutic window について解説したが、細胞レベルでの therapeutic window を評価する方法として、マウス pro-B 細胞である Baf3 細胞を用いた実験系が多く研究室で用いられている。酵素レベルでの評価に比べ細胞レベルで評価することで、より生体（臨床）に近いデータが取得できる。我々は、本モデルを用いて取得した EGFR-TKI の感受性データを野生型および各種遺伝子変異と比較し、細胞レベルでの therapeutic window を評価した (Figure 5)。<sup>12</sup> ここでは、現在臨床で使用される EGFR-TKI が exon 19 deletion や L858R に広い therapeutic window を有していることがわかる。特に afatinib は、これら感受性変異に対しては最も広い therapeutic window を有する薬剤の 1 つであることがうかがえる。臨床現場では afatinib 投与により下痢や皮疹などの副作用が強く経験されることがあるが、afatinib が広い therapeutic window を有していることを考えると、副作用症状が軽快するレベルまで速やかに投与量を減らしても多くの場合効果には問題ないことが推察される。

現在最もよく使用される EGFR-TKI である osimertinib であっても、FLAURA 試験での無増悪生存期間 (progression-free survival : PFS) 中央値は 18.9 か月である。<sup>13</sup> つまり、多くの場合 EGFR-TKI 開始後数年のうちに耐性化が起こる。耐性化の問題は、EGFR 遺伝子変異陽性肺癌患者の予後改善を阻んでいる。今後さらに有効な薬剤あるいは治療法の開発が必要である。

薬剤感受性を考える上で ATP と EGFR-TKI の親和性の相対的なバランスが大事だということを前述した。今後有効な治療法を開発する上で、有効な EGFR-TKI の開発とともに、椅子取りゲームの相手方である ATP 濃度をコントロールするのも有効な治療法につながる可能性がある。酵素レベルでの検討で、EGFR-TKI の効果は ATP 濃度が低下することで増強することが知られている。Figure 6 は我々の自験例である。耐性変異といわれている D770\_N771insNPG であっても ATP 濃度が低



**Figure 6.** Inhibition by gefitinib at a range of ATP concentrations. **A.** A763\_Y764insFQEA (insFQEA), **B.** L858R, **C.** D770\_N771insNPG (insNPG), **D.** wild type (WT) EGFR protein (ref: Yasuda H et al. *Science Transl Med.* 2013).

下することで、低い濃度の gefitinib で増殖が抑えられることがわかる。

これは、椅子取りゲームの相手 (ATP) の数が減ることによって、EGFR-TKI にとって有利な状況を作り出すことができることを意味する。ATP は細胞の糖代謝などによって産生されるものであることを考えると、何らかの代謝を阻害する薬剤との組み合わせは EGFR-TKI の感受性を亢進させる可能性がある。

血管新生阻害薬は、腫瘍血管に影響を及ぼすことで癌細胞の代謝を変化させ、細胞内 ATP 濃度を変化させる可能性がある。今までに血管新生阻害薬と EGFR-TKI の併用療法の良好な成績が複数の臨床試験で報告されているが、<sup>14,15</sup> これら血管新生阻害薬が癌細胞の代謝を変え細胞内 ATP 濃度を低下させることで EGFR-TKI の効果を增强している可能性がある。ただ、血管新生阻害薬であっても癌細胞の代謝に与える影響は様々である。我々の検討では、bevacizumab と nintedanib の間でも細胞内 ATP 濃度に与える影響は大きな違いを認めた。この他、糖尿病や高脂血症などで使用される薬剤との併用など ATP 濃度を意識した併用療法の開発は、合理的で有効である可能性がある。

## 6. おわりに

EGFR 遺伝子変異陽性肺癌の分野では、活性化遺伝子変異同定から、薬剤開発、臨床試験での有効性の検証、患者予後改善までが急速な勢いで進んだ。様々な癌領域の中でも、稀な成功例といえる領域であると思う。しかしこのような成功をもってしても、進行期の EGFR 遺伝子変異陽性肺癌患者が 5 年を超えて生存するのは困難であり、さらなる予後改善が期待される。そのためにはさらなる生物学的理解が進むとともに、様々なアプローチからの治療法開発が進むことが必要である。本総説が EGFR 遺伝子変異陽性肺癌の理解の一助になれば幸いである。

本論文内容に関連する著者の利益相反：安田浩之 [日当・講演料] アストラゼネカ [研究費・助成金などの総額] アストラゼネカ、ベーリンガーインゲルハイム

## REFERENCES

1. Thatcher N, Chang A, Parikh P, Rodrigues Pereira J, Ciuleanu T, von Pawel J, et al. Gefitinib plus best suppor-

- tive care in previously treated patients with refractory advanced non-small-cell lung cancer: results from a randomised, placebo-controlled, multicentre study (Iressa Survival Evaluation in Lung Cancer). *Lancet*. 2005;366:1527-1537.
2. 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.
  3. Pao W, Miller V, Zakowski M, Doherty J, Politi K, Sarkaria I, et al. EGF receptor gene mutations are common in lung cancers from “never smokers” and are associated with sensitivity of tumors to gefitinib and erlotinib. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101:13306-13311.
  4. 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.
  5. Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, Yang CH, Chu DT, Saijo N, et al. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. *N Engl J Med*. 2009;361:947-957.
  6. Yarden Y, Sliwkowski MX. Untangling the ErbB signaling network. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2001;2:127-137.
  7. Zhang X, Gureasko J, Shen K, Cole PA, Kuriyan J. An allosteric mechanism for activation of the kinase domain of epidermal growth factor receptor. *Cell*. 2006;125:1137-1149.
  8. Yun CH, Boggon TJ, Li Y, Woo MS, Greulich H, Meyerson M, et al. Structures of lung cancer-derived EGFR mutants and inhibitor complexes: mechanism of activation and insights into differential inhibitor sensitivity. *Cancer Cell*. 2007;11:217-227.
  9. Yasuda H, Park E, Yun CH, Sng NJ, Lucena-Araujo AR, Yeo WL, et al. Structural, biochemical, and clinical characterization of epidermal growth factor receptor (EGFR) exon 20 insertion mutations in lung cancer. *Sci Transl Med*. 2013;5:216ra177.
  10. Tamirat MZ, Koivu M, Elenius K, Johnson MS. Structural characterization of EGFR exon 19 deletion mutation using molecular dynamics simulation. *PLoS One*. 2019;14:e0222814.
  11. Yun CH, Mengwasser KE, Toms AV, Woo MS, Greulich H, Wong KK, et al. The T790M mutation in EGFR kinase causes drug resistance by increasing the affinity for ATP. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105:2070-2075.
  12. Hirano T, Yasuda H, Tani T, Hamamoto J, Oashi A, Ishioka K, et al. In vitro modeling to determine mutation specificity of EGFR tyrosine kinase inhibitors against clinically relevant EGFR mutants in non-small-cell lung cancer. *Oncotarget*. 2015;6:38789-38803.
  13. Soria JC, Ohe Y, Vansteenkiste J, Reungwetwattana T, Chewaskulyong B, Lee KH, et al. Osimertinib in Untreated EGFR-Mutated Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2018;378:113-125.
  14. Seto T, Kato T, Nishio M, Goto K, Atagi S, Hosomi Y, et al. Erlotinib alone or with bevacizumab as first-line therapy in patients with advanced non-squamous non-small-cell lung cancer harbouring EGFR mutations (JO25567): an open-label, randomised, multicentre, phase 2 study. *Lancet Oncol*. 2014;15:1236-1244.
  15. Nakagawa K, Garon EB, Seto T, Nishio M, Ponce Aix S, Paz-Ares L, et al. Ramucirumab plus erlotinib in patients with untreated, EGFR-mutated, advanced non-small-cell lung cancer (RELAY): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2019;20:1655-1669.