

肺癌と分子標的薬

木浦 勝行^{a*}, 谷本 光音^b

^a岡山大学病院 呼吸器・アレルギー内科,

^b岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 血液・腫瘍・呼吸器内科学

キーワード：肺癌，分子プロファイリング，分子標的薬，EGFR 遺伝子変異，ALK 融合遺伝子

Lung cancer and molecular targeted drugs

Katsuyuki Kiura^{a*}, Mitsune Tanimoto^b

^aDepartment of Allergy and Respiratory Medicine, Okayama University Hospital, ^bDepartment of Hematology, Oncology and Respiratory Medicine, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Science

諸言

肺癌は世界保健機構（World Health Organization：WHO）の言う高収入国（high-income countries）では、年齢調整死亡率が低下傾向にあるにもかかわらず、虚血性心疾患、脳血管疾患に次いで主要死因の第3位であり、人口の5.9%が肺癌のために亡くなっている¹⁾。近年、肺癌の治療成績は禁煙活動の普及、低線量コンピュータ断層写真（computed tomography：CT）検診などによる早期発見、放射線同時併用化学療法、分子標的薬の進歩に伴い改善しているが（図1，2），本邦でも肺癌は癌死亡の第1位であり、約7万人/年の患者が死亡している。肺癌は第4位の肺炎について単独疾患としても主要死因の第5位に相当し、日本国民の18人に1人が肺癌のために亡くなっている（平成23年人口動態統計）²⁾。

進行肺癌治療方針は腫瘍の組織像に基づいて経験的に行われ、幾多の臨床試験によりプラチナベースの化学療法が治療の中心となったが、“治癒”いわゆる長期無病生存は例外的という状況が続いている。従って、新しい治療法や治療戦略が絶対的に必要と考えられる。

肺癌の分子プロファイリング³⁾

肺癌は組織学的に肺非小細胞癌（non-small cell lung cancer：NSCLC）および肺小細胞癌（small cell lung cancer：SCLC）に分けられて治療法が決定されてきた。過去10年間で、分子生物学の目覚ましい発展によ

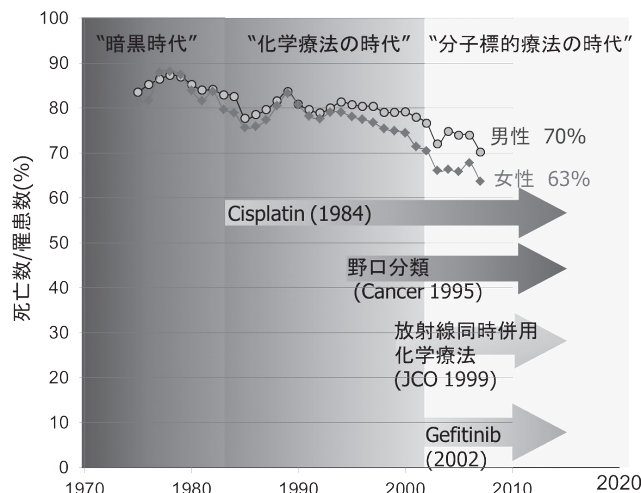


図1 本邦における肺癌の死亡数/罹患数の年次推移（人口動態統計（厚生労働省大臣官房統計情報部編），地域がん登録全国推計値 国立がんセンターがん対策情報センター（<http://ganjoho.ncc.go.jp/professional/statistics/index.html>）2012年7月閲覧）

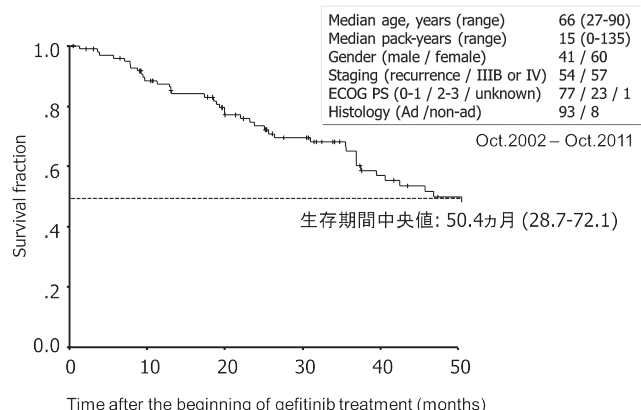


図2 教室におけるEGFR遺伝子変異陽性肺非小細胞癌患者の治療成績（未発表データ：市原の厚意による）

平成25年1月受理

*〒700-8558 岡山市北区鹿田町2-5-1

電話：086-235-7230 FAX：086-232-8226

E-mail：kkiura@md.okayama-u.ac.jp

り表1に示すようにNSCLCはAKT1, ALK, BRAF, EGFR, HER2, KRAS, MEK1, MET, NRAS, PIK3CA, RET, ROS1を含む多くの癌遺伝子とそのドライバー変異 driver mutation が明らかにされた。分子生物学的診断が可能となり、それに対応した個別化治療も一部では成功している³⁾。進行肺癌で治療症例は例外的であるが、図2に示すように進行・再発NSCLCでも上皮成長因子受容体 (epidermal growth factor receptor : EGFR) 遺伝子変異陽性肺癌に限定すれば生存期間中央値は4年を越えている。

NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®) version 1.2013

本ガイドラインでは最初の組織分類で亜型を腺癌, 大細胞癌, 非小細胞癌分類不能と扁平上皮癌の2群に分け, 前者では積極的にEGFR 遺伝子変異 (カテゴリー

ー1 : 高いエビデンスに基づき適切な介入が行われ統一されたNCCNの意見の一致がある), 未分化リンパ腫リン酸化酵素 (anaplastic lymphoma kinase : ALK) 融合遺伝子を積極的に検査し, 陽性であれば各々の遺伝子異常に対して適切な分子標的薬の投与をその治療指針のアルゴリズムで提案している (図3)。EGFR 遺伝子変異が陽性であれば早期よりエルロチニブ (erlotinib) (米国のガイドラインであるがゲフィチニブ (gefitinib) も可と注釈あり), ALK 融合遺伝子陽性であればまだ無作為化比較試験 (PROFILE 1014) の結果は明らかにされていないが1次治療からクリゾチニブ (crizotinib) 投与を提案している。さすがに推奨はしていないが, カテゴリー2 A (低いエビデンスに基づき適切な介入が行われ統一されたNCCNの意見の一致がある) としている。扁平上皮癌症例では一律にEGFR 遺伝子変異検査を勧めていない。その根拠

表1 遺伝子変異の頻度と分子標的薬のアクセスの可能性について (文献3を改変)

遺伝子	Alteration	NSCLCにおける頻度	Drugs
AKT	Mutation	1 %	unknown
ALK*	Rearrangement	3 ~ 7 %	ALK TKIs, Crizotinib, HSP-90 inhibitors
BRAF †	Mutation	1 ~ 3 % V600E (50%)	Unknown V600E : vemurafenib [malignant melanoma]
DDR2 †	Mutation	~ 4 % in Squamous cell carcinoma of the lung	Dasatinib (ex vivo) [CML, Bcr-Abl]
EGFR*	Mutation	~10% in the USA ~35% in Asia	Gefitinib, Erlotinib (Afatinib, Dacomitinib)
FGFR1	Amplification	20% in Squamous cell carcinoma of the lung	(FGFR TKI/Anti-FGFR mAb)
HER2 †	Mutation	2 ~ 4 %	Trastuzumab [breast]
KRAS	Mutation	15~25% in the USA 5~10% in Asia	
MEK1	Mutation	1 %	
MET**	Amplification	2 ~ 4 %	Crizotinib
NRAS	Mutation	1 %	
PIK3CA	Mutation	1 ~ 3 %	
PTEN	Mutation	4 ~ 8 %	
RET †	Rearrangement	1 %	Vandetanib/Sorafenib/Sunitinib (preclinical) [thyroid cancer/hepatocellular carcinoma, renal cell cancer etc]
ROS1**a	Rearrangement	1 %	Crizotinib

*NSCLC で承認されている。 **ほかの分子タイプのNSCLCで承認されている。 †他の癌腫で承認されている。
(Molecular Profiling of Lung Cancer : <http://www.mycancergenome.org/content/disease/lung-cancer>)

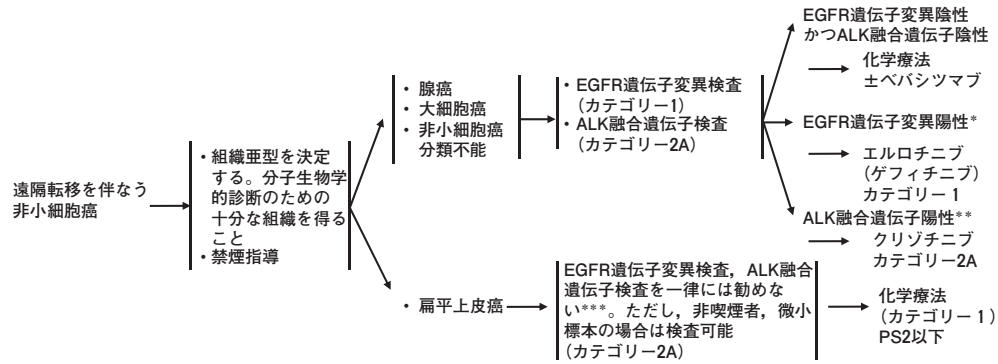


図3 NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®) version 1.2013による遠隔転移を伴う肺非小細胞癌患者に対する(米国における)基本的治療方針

* 1次治療でEGFR-TKIを使用することは問題ないと考えられるが、2次治療以下でのTKI治療と比較して全生存期間を延長した報告はない。 ** 1次治療でクリゾチニブが全生存期間を延長したという報告はない。 *** これは今後議論が必要と個人的には考える。

として扁平上皮癌におけるEGFR遺伝子変異の頻度(2.6%)を挙げている。ただし、肺扁平上皮癌症例でも非喫煙者、微小サンプルの場合はEGFR遺伝子変異の検査を認めている。この少数例を根拠とした除外方針を筆者は賛同できない。RET融合遺伝子とかROSL融合遺伝子は1%前後の頻度であるが、これらの患者にもアプローチすべきと考えるし、筆者らの施設では壁結節を伴う空洞を有する画像所見と典型的な角化像を有する病理組織所見を呈する重喫煙者の男性でEGFR遺伝子変異陽性あるいは不明の扁平上皮癌患者でもゲフィチニブの著効例を経験している^{5,6)}。本邦では肺扁平上皮癌でも活性化EGFR遺伝子変異の頻度が13.3%(33/249症例)とも報告されており⁷⁾、これらも人種差がある可能性ある。医療資源と患者利益の問題はあるが、本邦では全例実施が望ましいと考える。

癌遺伝子依存

図4に示すようにドライバー変異は腫瘍形成 tumorigenesis を誘導し、その増殖 proliferation と生存 survival を維持する変異シグナル伝達タンパク質を構造的に活性化させ、癌細胞にいわゆる癌遺伝子依存 (oncogene addiction: 図4の説明参照) をもたらす。これらのドライバー変異は同一腫瘍で重複することは稀で、多くは排他的に発現する。

肺扁平上皮癌

EGFR 遺伝子変異, HER2 遺伝子変異, ALK 融合遺伝子, RET 融合遺伝子, ROS1 融合遺伝子は非喫煙者の腺癌患者でより多く認められ、精力的に解析研究が

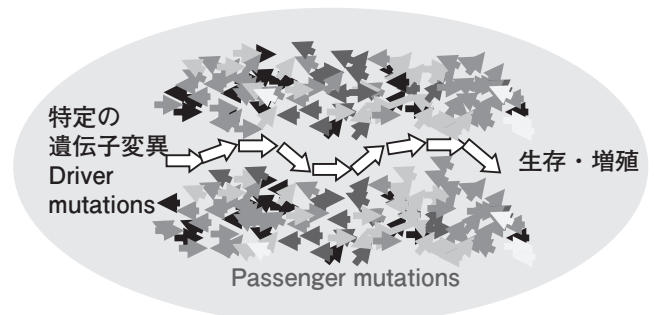


図4 癌遺伝子依存 (oncogene addiction) とドライバー変異 (driver mutations)

癌細胞では膨大な数の体細胞突然変異 somatic mutations が起こっている。癌遺伝子依存 oncogene addiction とは癌細胞がその増殖と生存を唯一の癌化シグナルに完全に依存している状態を指し、その単一シグナルは癌細胞のアキレス腱になりうるという概念を Bernard Weinstein (2002) が提唱した*。癌化・増殖に関係する癌遺伝子の変異をドライバー変異 driver mutations**といい、癌細胞のクローン性増殖に関係してない変異を passenger mutations**という。ドライバー変異により癌遺伝子依存状態となった癌細胞はその変異を標的とした薬剤によるシグナル遮断により細胞死を起こす、分子標的療法を支える基本概念である。慢性骨髄性白血病での Bcr-Abl 融合遺伝子におけるイマチニブ、肺癌での EGFR 遺伝子変異におけるゲフィチニブ、エルロチニブがその典型例である。(*Weinstein IB: Cancer. Addiction to oncogenes--the Achilles heal of cancer. Science (2002) 297, 63-64. **Futreal PA, Coin L, Marshall M, Down T, Hubbard T, Wooster R, Rahman N, Stratton MR: A census of human cancer genes. Nat Rev Cancer. (2004) 4, 177-183.)

進められている。一方、肺扁平上皮癌の分子生物学的取り組みは、肺腺癌のそれと比較し遅れをとっている。肺腺癌で発見されたドライバー変異の多くは、肺扁平上皮癌では認められないか、その頻度は非常に低い。さらに、ベバシズマブ (bevacizumab)⁸⁾ とペメトレキ

セド (pemetrexed)⁹⁾ などの新規抗癌薬はそれぞれ安全性と有効性の問題から非扁平上皮癌で使用されている。したがって、転移性肺扁平上皮癌患者は、非扁平上皮肺非小細胞癌患者より治療選択肢も少ない。しかし、扁平上皮癌患者でも標的治療にリンクするドライバー変異、例えば PIK3CA 遺伝子変異, FGFR1 遺伝子の増幅, DDR2 遺伝子変異などが報告されつつある。

肺癌遺伝子変異コンソーシアム

ドライバー変異を標的とした新規分子標的薬が次々と開発されている一方、それらの遺伝子変異を有する患者を選択して実施している臨床試験は少ないのが現状である。この状況を打破するために、米国では新たな試みが既に開始されている。肺癌遺伝子変異コンソーシアム (Lung Cancer Mutation Consortium) として、米国 National Cancer Institute が主導し、大規模組織的な肺癌の分子プロファイリングが全米16施設で行われている (図5)¹⁰⁾。各施設では、10種類の遺伝子変異 (EGFR, KRAS, BRAF, HER2, AKT1, NRAS, PIK3CA, MEK1, EML4-ALK, MET 増幅) を調査して、遺伝子変異のプロファイルを明らかにするとともに、遺伝子変異に応じた最適な治療手段の提供、あるいは臨床試験への登録を目的としている。個別化治療を推進するためにはこのような体制を構築していくことが急務である。

ドライバー変異の各論

1. AKT1

NSCLC の約 1% で腺癌、扁平上皮癌で認められるが臨床的背景、AKT1 変異の役割は現在不明である。



図5 肺癌遺伝子変異コンソーシアム (Lung Cancer Mutation Consortium) で分子プロファイリングを行っている全米16施設

他のドライバー変異と重複せず、その E17K 変異は AKT1 の pleckstrin homology 部位に認められ、phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) 経路を活性化する。AKT1 E17K 変異を有する細胞に AKT1 阻害薬は無効である^{3,11)}。

2. ALK 融合遺伝子

微小管会合蛋白 (echinoderm microtubule associated protein like 4 : EML4)-ALK 融合遺伝子が癌細胞の生存・増殖を支配する癌遺伝子のドライバー変異が同定され、それを標的とした分子標的薬クリゾチニブが開発、臨床導入されている。ALK 融合遺伝子陽性肺癌の診断方法として高感度免疫染色法、FISH 法、RT-PCR 法がある。長所、短所については日本肺癌学会バイオマーカー委員会による ALK 遺伝子検査の手引きに詳細な解説があるので是非参照して頂きたい¹²⁾。

1) ALK チロシンリン酸化酵素阻害薬 (tyrosine kinase inhibitor : TKI)

(1) クリゾチニブ

表2に示す通りクリゾチニブは ALK, c-Met/ 肝細胞増殖因子受容体 (hepatocyte growth factor receptor : HGFR), Recepteur d'Origine Nantais (RON), ROS1 受容体チロシンリン酸化酵素 (receptor tyrosine kinase : RTK) ならびにその変異体 (例えば c-MET/HGFR の変異体, ALK または ROS1 の融合蛋白) に対する ATP 競合性の経口低分子 TKI である¹³⁾。肺腺癌では EML4 が ALK の主たる融合パートナーであるが、TGF, KIF5B, KLC1¹⁴⁻¹⁶⁾ なども融合対象となる。ALK 融合蛋白は二量体化することにより構造的に活性化し、下流にある多数のシグナル伝達因子を活性化する。クリゾチニブは ALK のリン酸化部位に ATP が結合することを競合的に阻害し、下流にある ERK, Akt, STAT3, PLC γ 1 など細胞の増殖と進展に関与する経路を抑制し、抗腫瘍効果を発揮すると考えられている¹³⁾。

表2 クリゾチニブの受容体チロシンリン酸化酵素に対する50%効果濃度 (half maximal effective concentration : EC₅₀)¹³⁾

Target	In Vitro EC ₅₀
EML4-ALK	0.5 nM
Wild type c-MET	0.62 nM
RON receptor tyrosine kinase	9.1 nM
ROS1 receptor tyrosine kinase	60 nM

海外第 I 相試験 (PROFILE 1001) : FISH 法による ALK 陽性 NSCLC 患者に対するクリゾチニブの奏効率は 61% (PCR 法を併用している日本人に限定した奏効率は 93% [14/15 例] と驚異的である), 無増悪生存期間 (progression-free survival : PFS) は約 10 ヶ月であった^{13,17}. 国際共同試験第 II 相試験 (PROFILE 1005) では FISH 法による ALK 陽性 NSCLC 患者でクリゾチニブの奏効率は 51% であった.

ALK 陽性患者の 2 次治療でペメトレキセドあるいはドセタキセル (docetaxel) に対する PFS におけるクリゾチニブの優越性 (PROFILE 1007) が証明された. 化学療法無効時にクリゾチニブがクロスオーバーされているため, 全生存期間で有意差を出すことは困難であると推定される. 現在 1 次治療に対するクリゾチニブの有用性を検討した PROFILE 1014 試験の結果待ちの状態であるが, NCCN のガイドラインではクリゾチニブの 1 次治療での使用を提案している.

(2) CH5424802 (AF802)

中外製薬により, ALK のチロシンリン酸化酵素 (tyrosine kinase : TK) を特異的かつ強力に阻害する低分子化合物 CH5424802 が同定され, 現在開発治験が進行中である. 前臨床試験の成績では L1196M (gate keeper 耐性変異) を有する細胞株にも有効であることが示されている¹⁸. 第 I / II 相試験は既に終了し, 2012 年日本肺癌学会総会で第 II 相試験の結果が明らかにされ, 完全奏効 2 人を含む奏効率 93.5%, また脳転移有効症例も報告されている.

(3) LDK378

ノバルティスファーマ社によって開発治験が行われている. 第 I 相試験は終了し, 第 II 相試験が進行中である. 2012 年米国臨床腫瘍学会で LDK378 400mg 以上の投与でクリゾチニブ既治療例での奏効率が 81% と報告されている [J Clin Oncol 30, 2012 (suppl ; abstr 3007)].

2) Heat Shock Protein (HSP)-90 阻害薬

ALK 融合遺伝子陽性肺癌に対して HSP-90 阻害薬 Retaspimycin (IPI-504)¹⁹, Ganatespib (STA-9090) [J Clin Oncol 28 : 15s, 2010 (suppl ; abstr 3083)] はそれぞれ 2/3 例, 4/8 例の部分奏効が報告されている.

3. BRAF

BRAF 遺伝子変異は NSCLC の 1 ~ 3% で, その多くは腺癌の喫煙者に認められ, 他の癌遺伝子のドライバー変異と重複発現しない. 悪性黒色腫では exon15 の V600E が殆どであるが, 肺腺癌では V600E (50%),

G469A (39%), D594G (11%) などが同定されている³.

1 例報告であるが, BRAFV600E 変異を有する NSCLC に vemurafenib が有効であったと報告されている²⁰. Vemurafenib は経口投与可能な小分子化合物で BRAFV600E を含む BRAF 遺伝子変異のセリン-スレオニン serine-threonine リン酸化酵素部位を抑制する. 他に CRAF, ARAF, wild-type BRAF, SRMS, ACK1, MAP4K5, FGR を抑制する. 本邦でも vemurafenib は V600E 陽性悪性黒色腫で適応承認を受けている.

4. DDR2

DDR2 (discoidin death receptor 2) はコラーゲンによって刺激される DDR ファミリーに属する. 癌細胞における DDR2 の下流シグナルは十分に解析されていないが, SRC, STAT を介して, インテグリン受容体と同様に, 細胞外マトリックスを利用して細胞間相互作用を調節している可能性はある³.

DDR2 遺伝子変異は肺扁平上皮癌で約 4% とされているが, 過剰発現や増幅は報告されていない. 遺伝子変異の hotspots も同定されていない. 変異はリン酸化部位 (ATP 結合部位) にも discoidin 部位 (コラーゲンが結合する細胞外部位) にも起こる.

DDR 変異陽性肺癌の臨床背景は明らかでないが, 性別, 年齢, 喫煙歴とは関連はないことが示唆されている. 他の EGFR 遺伝子変異などと重複発現しない²¹.

ダサチニブ (dasatinib) は試験管内で DDR2 を阻害し, I638F と L239R 変異を有する肺扁平上皮癌細胞に感受性を有し, マウス xenografts の実験でも同様の縮小効果を示した²¹. DDR2 変異を標的とした臨床試験は実施されてないが, DDR2 S768R 変異は肺扁平上皮癌で見つけられ, ダサチニブとエルチニブの併用で有効例が報告されている²¹.

5. EGFR

EGFR は EGFR/ERBB1, HER2/ERBB2/NEU, HER3/ERBB3, HER4/ERBB4 を含む RTK ファミリーに属する. EGF などのリガンドが結合するとホモあるいはヘテロダイマーの立体構造に変化が起こり, 結果として EGFR の TK の活性化が起こる. 活性化した EGFR は基質をリン酸化し PI3K-AKT-mTOR 経路 (細胞の生存), RAS-RAF-MEK-ERK 経路 (細胞の増殖) を活性化する³.

EGFR 遺伝子変異は米国で約 10%, 東アジアで約 35% の NSCLC に存在し, これらの遺伝子変異は EGFR

の TK 部位をコードする exons 18-21に起こる。EGFR 遺伝子変異は通常ヘテロ接合し、増幅している。exon 19 欠失と exon 21 L858R は EGFR 遺伝子変異の約90%を占める。これらの変異は EGFR のリン酸化活性を増大させ、下流の生存・増殖の経路を活性化させる³⁾。

EGFR 遺伝子変異は女性、非喫煙者、腺癌患者に高率に認められるが、重喫煙者、扁平上皮癌患者でも認められる。多くの場合、EGFR 遺伝子変異は他の NSCLC で認められる他のドライバー変異と重複しない³⁾。

1) EGFR 遺伝子変異と第1世代 EGFR-TKI

EGFR の TK 部位を標的とする小分子化合物ゲフィチニブが1994年に発見され、1997年からその臨床試験が開始、2002年には臨床導入された²²⁾。前臨床試験ではその薬効から研究者の多くは腫瘍自体の縮小ではなく長期不変あるいは病状コントロールを想定していた²²⁾。しかしながら、臨床試験で予想外の劇的な腫瘍縮小効果を経験することになる^{23,24)}。これら後の研究で EGFR の ATP 結合部位にドライバー変異が入ることにより、癌細胞は癌遺伝子依存状態となる。変異 EGFR (癌細胞のみに発現) の ATP 結合部位は野生型 EGFR (正常細胞に発現) と比較すると、変異が入ることにより ATP は結合しにくくなり、逆にゲフィチニブは結合しやすくなり、変異 EGFR のシグナルのみを遮断できる (癌細胞のみに傷害を与える)。これらによって広いゲフィチニブの治療域がもたらされる²⁵⁾。

ゲフィチニブやエルロチニブは EGFR との結合は水素結合により可逆的であるため、reversible EGFR-TKI と称され、現在開発中の不可逆性 (irreversible) EGFR-TKI と区別するため、第1世代 EGFR-TKI と呼ばれる。

2) EGFR-TKI に対する薬剤耐性と第2世代 EGFR-TKI の開発

EGFR-TKI の登場により PFS が約10ヵ月と明らかな延長がみられたが、一方で10ヵ月を超えると増悪し、臨床的に EGFR-TKI 耐性が生じてくる。現時点で報告されている耐性機序として、① T790M 変異を代表とした EGFR の TK 部位 (= ATP 結合部位) の ATP 結合能と TKI 結合能のバランスの変化、② EGFR 下流シグナルへのバイパスシグナル bypass signaling (細胞内では c-MET 増幅など・細胞外の環境からの HGF などの ligand signaling)、③ Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT; 上皮間葉移行)、④小細胞癌化が主

たる原因と考えられている²⁶⁾。

この T790M の2次変異による耐性を克服すべく開発されているのが第2世代 EGFR-TKI で、開発が進んでいるのは BIBW2992 (afatinib)²⁷⁾ と PF-00299804 (dacomitinib)²⁸⁾ であるが、単独使用では期待された T790M 耐性を克服できていない。さらに耐性克服のために、T790M 変異により選択的な効果がある第3世代 EGFR-TKI (CO-1686, WZ4002など) の開発も進んでいる。

6. FGFR1

1型線維芽細胞成長因子受容体 (fibroblast growth factor receptor type 1: FGFR1) 遺伝子は、FGFR1, 2, 3, 4 を含む FGFR TK ファミリーのひとつである。FGFR1 は口腔扁平上皮癌、乳癌、食道癌、卵巣癌、膀胱癌、前立腺癌、肺癌、特に扁平上皮癌で認められている³⁾。

FGFR1 遺伝子増幅は喫煙者、喫煙の既往のある肺扁平上皮癌患者の約20%に認められるが、腺癌では稀で3%未満である。前臨床の成績では FGFR1 遺伝子が増幅した細胞株は FGFR シグナルに依存し、pan-FGFR TKI を含む FGFR 阻害薬は動物実験で優れた効果を示している^{29,30)}。

7. HER2

HER2 は EGFR/ERBB1, HER2/ERBB2/NEU, HER3/ERBB3, HER4/ERBB4 を含む RTK ファミリーに属し、第17番染色体に位置する。いくつかの癌種で増幅が報告され、HER2 増幅は腫瘍形成促進と病因そのものに関与している。HER2 の ligand は同定されていない。ERBB ファミリーとダイマーを形成し、活性化される。活性化した HER2 は基質をリン酸化し PI3K-AKT-mTOR 経路 (細胞の生存)、RAS-RAF-MEK-ERK 経路 (細胞の増殖) を活性化する³⁾。

HER2 遺伝子変異は NSCLC の 2~4%程度で、exon20 の挿入変異が多く (83~100%)、非喫煙者の腺癌患者に多い。乳癌と異なり、HER2 遺伝子増幅は変異と同時に起こらず、予後因子や効果予測因子にならない。HER2 遺伝子変異も他の癌遺伝子と通常は重複しない³⁾。

非選択 NSCLC 患者で化学療法にトラツズマブ (trastuzumab) を追加併用しても上乗せ効果は認められていないが、HER2 Exon 20 挿入変異陽性既治療 NSCLC 患者でアフチニブが有効であった³¹⁾。HER2 Exon 20 挿入変異を有する細胞株にトラツズマブが有

効であり，後方視解析で HER2 Exon 20挿入変異を有する NSCLC 患者にトラツズマブの有効例が改められている [#1232PD Ann Oncol (2012) 23 (suppl 9)]. HER2 Exon 20 挿入変異を有する NSCLC 細胞株は EGFR と HER2 の dual TKI であるラパチニブ lapatinib, ネラチニブ neratinib, アファチニブに感受性があり³⁾, 臨床応用が期待される。

8. KRAS

ヒト RAS 遺伝子は三つの異なった遺伝子 KRAS (homologous to the oncogene from the Kirsten rat sarcoma virus), HRAS (homologous to the oncogene from the Harvey rat sarcoma virus), NRAS (first isolated from a human Neuroblastoma) からなり，相同性は高いが機能は異なる³⁾。

RAS は PI3K-AKT-mTOR 経路(細胞の生存), RAS-RAF-MEK-ERK 経路(細胞の増殖)を活性化する。RAS はいくつかの癌の病因であり，RAS の活性化変異は構造的な RAS GTPase 活性化がもたらされ，細胞内で増殖シグナルが維持される³⁾。

KRAS 遺伝子変異は大腸癌，肺癌，膵癌で多い。欧米では肺腺癌の約12～25%で KRAS 遺伝子変異が陽性であるが，扁平上皮癌では稀である。KRAS 遺伝子変異は他の癌遺伝子と排他的であり，喫煙者にも非喫煙者にも認められる。東アジアでの頻度は低く，岡山大学の手術症例では5%程度である(豊岡先生：私信)。

現在，KRAS 陽性肺癌に対して有効な治療法はない。

9. MEK1

MEK1 (MAP2K1) は MAP kinase signaling pathway の中心にあるセリンスレオニン蛋白リン酸化酵素であり，細胞の増殖，分化，調節に関与している。MAP2K1 遺伝子変異は NSCLC の約1%で扁平上皮癌より腺癌に多い。MEK1 K57N 陽性肺癌患者の臨床的特徴は不明である³⁾。前臨床試験では MEK1 K57N 変異を有する細胞株は MEK1 阻害薬 AZD6244 に感受性がある³²⁾。

10. MET

MET (MNNG-HOS transforming) は第7染色体に位置し，MET/RON ファミリーの RTK に属し，その ligand の hepatocyte growth factor (HGF) は MET 受容体の立体構造を変化させ，リン酸化を惹起させ活性化させる。MET の活性化は PI3K-AKT-mTOR 経路(細胞の生存)，RAS-RAF-MEK-ERK 経路(細胞の増殖)を活性化する。MET 受容体活性化は成長，生存，浸潤，移動，血管新生，転移を促進する³⁾。

MET 増幅は未治療 NSCLC で 2～4%，EGFR-TKI で治療後であれば 5～20%の増幅が認められる³⁾。

前臨床試験で MET 増幅のある NSCLC 細胞株で MET 受容体を抑制すると細胞死がもたらされることが明らかにされ，臨床でもその有効性が確認されつつある³³⁾。

11. NRAS

NRAS 変異は悪性黒色腫，肝細胞癌，骨髄性白血病，甲状腺癌で認められるが，NSCLC で NRAS 遺伝子変異は1%程度で，特異的治療法はない。

12. PIK3CA

PI3K は細胞の成長，増殖，分化，移動，生存を含む多くの過程に関与する脂質リン酸化酵素ファミリーで，二つのサブユニット 85 kDa regulatory subunit (p85) と 110 kDa catalytic subunit (p110) からなるヘテロダイマーである。PIK3CA は p110 をエンコードする。細胞膜の内側で PI3K は PI(4,5)P2 [Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate] (PIP2) を PI(3,4,5)P3 [Phosphatidylinositol (3,4,5)-trisphosphate] (PIP3) へ変換する。PIP3 は下流の重要なシグナル蛋白を活性化させる。

変異型 PIK3CA は大腸癌，胃癌，乳癌，肺癌などの病因となりうる。PIK3CA 遺伝子変異は NSCLC の 1～3%に認められ，exon 9 (helical domain) と exon 20 (kinase domain) に二つの“hotspot”を認める。

PIK3CA 遺伝子変異は腺癌より扁平上皮癌に多く，喫煙者にも非喫煙者にも起こり，EGFR 遺伝子変異との重複発現が認められる³⁴⁾。さらに，PIK3CA 遺伝子変異は EGFR 遺伝子変異陽性肺癌の EGFR TKI の治療後に獲得耐性として出現することもある(5%程度)³⁵⁾。

pan-class I PI3K 阻害薬 BKM 120 の固形腫瘍に対する第 I 相試験は終了し³⁶⁾，第 I B/II 試験が行われている。dual PIK3CA/mTOR 阻害薬である PI-103 と PI3K/mTOR 阻害薬である NVP-BE235 は PIK3CA 遺伝子変異を有する肺癌細胞に感受性を示している^{37,38)}。

13. PTEN

PTEN (phosphatase and TENsin homolog deleted on chromosome ten) は脂質・蛋白質の脱リン酸化酵素で細胞の成長，増殖，生存，ゲノムの維持に重要な役割を有している。PTEN は PI3K/AKT signaling 経路を細胞膜にある PIP3 を脱リン酸化することにより負に制御し腫瘍を抑制するように働く。

14. RET

現在，RET のみを阻害する薬剤はないが，抗 RET

活性を有する TKI の臨床試験は本邦でも進行中である。Ba/F 細胞に KIF5B-RET 融合遺伝子を導入すると、バンデタニブ(vandetanib : a multi-targeted kinase inhibitor) はその細胞の増殖を抑制した¹⁵⁾。抗 RET 活性を有する Multi-kinase inhibitors は Vandetanib (VEGFR-2, -3, EGFR, RET), Sorafenib (VEGFR-1, -2, KIT, RET, CRAF, BRAF), Sunitinib (VEGFR-2, KIT, RET, PDGFR α) がある。

15. ROS1

ROS1 はインシュリンファミリーの RTK であり、染色体 6q.22 上に存在する。ROS1 遺伝子を含む染色体の再構成は膠芽腫 glioblastoma で最初に報告された³⁹⁾。その後 NSCLC でもドライバー変異としての可能性が報告されていた。ROS1 融合蛋白は完全な TK 領域を保持し、発癌活性を有する。ROS1 融合蛋白の下流には細胞の成長と増殖に関するシグナルが存在する。

約 2% の肺癌に ROS1 融合蛋白は存在する⁴⁰⁾。ALK 融合蛋白と同様に、ROS1 融合蛋白は軽喫煙者 (<10 pack years)、非喫煙者、若年者、腺癌の患者により多く認められる⁴⁰⁾。

前臨床試験で ROS1 融合遺伝子を有する NSCLC 細胞株 HCC78 はクリゾチニブに感受性を持つ。クリゾチニブは CD74-ROS1 融合遺伝子を導入した HEK293 細胞における ROS1 のリン酸化を抑制し、ROS1 も阻害することが明らかにされた⁴⁰⁾。更に ROS1 融合遺伝子陽性の既治療転移性 NSCLC 患者と 65 歳の非喫煙者 NSCLC 患者はクリゾチニブ投与により部分奏効に導入された⁴⁰⁾。

NSCLC では様々な ROS1 の再構成、SLC34A2-ROS1, CD74-ROS1, EZR-ROS1, TPM3-ROS1, SDC4-ROS1 が報告されている^{15,41)}。ROS1 融合遺伝子は NSCLC における他のドライバー変異 (EGFR 遺伝子変異, KRAS 遺伝子変異, ALK 融合遺伝子など) と排他的に発現する⁴⁰⁾。

終わりに

将来的には個々の患者すべてに遺伝子変異は次世代シクエンサーを利用した全ゲノムあるいは exome シクエンズで、遺伝子増幅は比較ゲノムハイブリダイゼーション (comparative genomic hybridization, CGH) で網羅的に解析を行い、肺癌の病因となっているドライバー変異を決定して治療方針を決定するようになると思われる。

文 献

- 1) Global Health Observatory. Cause of death 2008 by World Health Organization. http://www.who.int/gho/mortality_burden_disease/causes_death_2008/en/index.html (2013年1月閲覧)
- 2) 人口動態統計 (厚生労働省大臣官房統計情報部編), 地域がん登録全国推計値 国立がんセンターがん対策情報センター. <http://ganjoho.ncc.go.jp/professional/statistics/index.html> (2011年10月閲覧)
- 3) Molecular Profiling of Lung Cancer. My Cancer Genome by the Vanderbilt-Ingram Cancer Center. <http://www.mycancergenome.org/content/other/molecular-pathology/targeted-therapeutics> (2013年1月閲覧)
- 4) Non-small cell lung cancer, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®) version 1.2013. http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/nscl.pdf (2013年1月閲覧)
- 5) Kozuki T, Kiura K, Ueoka H, Tabata M, Date H, Hamazaki S, Bessho A, Tanimoto M : Long-term effect of gefitinib (ZD1839) on squamous cell carcinoma of the lung. *Anticancer Res* (2004) 24, 393-396.
- 6) Zhang D, Takigawa N, Ochi N, Tanimoto Y, Noujima D, Chen YY, Tanimoto M, Kiura K : Detection of the EGFR mutation in exhaled breath condensate from a heavy smoker with squamous cell carcinoma of the lung. *Lung Cancer* (2011) 73, 379-380.
- 7) Hata A, Katakami N, Yoshioka H, Kunimasa K, Fujita S, Kaji R, Notohara K, Imai Y, Tachikawa R, Tomii K, Korogi Y, Iwasaku M, et al. : How sensitive are epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors for squamous cell carcinoma of the lung harboring EGFR gene-sensitive mutations? *J Thorac Oncol* (2013) 8, 89-95.
- 8) Sandler A, Gray R, Perry MC, Brahmer J, Schiller JH, Dowlati A, Lilenbaum R, Johnson DH : Paclitaxel-carboplatin alone or with bevacizumab for non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* (2006) 355, 2542-2550.
- 9) Scagliotti GV, Parikh P, von Pawel J, Biesma B, Vansteenkiste J, Manegold C, Serwatowski P, Gatzemeier U, Digumarti R, Zukin M, Lee JS, Mellemaard A, et al. : Phase III study comparing cisplatin plus gemcitabine with cisplatin plus pemetrexed in chemotherapy-naïve patients with advanced-stage non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* (2008) 26, 3543-3551.
- 10) Lung Cancer Mutation Consortium. <http://www.golcnc.com/> (2013年1月閲覧)
- 11) Bleeker FE, Felicioni L, Buttitta F, Lamba S, Cardone L, Rodolfo M, Scarpa A, Leenstra S, Frattini M, Barbareschi M, Grammasro MD, Sciarrotta MG, et al. : AKT1 (E17K) in human solid tumours. *Oncogene* (2008) 27, 5648-5650.
- 12) 光富徹哉, 谷田部 恭, 秋田弘俊, 弦間昭彦, 曾田 学,

- 豊岡伸一，中川和彦，西尾和人，萩原 一：肺癌患者における ALK 遺伝子検査の手引き，日本肺癌学会バイオマーカー委員会。http://www.haigan.gr.jp/uploads/photos/366.pdf (2012年9月閲覧)
- 13) Center for drug evaluation and research application. Number : 202570Orig1s000 Cross discipline team leader review. http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2011/202570Orig1s000CrossR.pdf (2013年1月閲覧)
- 14) Rikova K, Guo A, Zeng Q, Possemato A, Yu J, Haack H, Nardone J, Lee K, Reeves C, Li Y, Hu Y, Tan Z, et al. : Global survey of phosphotyrosine signaling identifies oncogenic kinases in lung cancer. *Cell* (2007) 131, 1190-1203.
- 15) Takeuchi K, Choi YL, Togashi Y, Soda M, Hatano S, Inamura K, Takada S, Ueno T, Yamashita Y, Satoh Y, Okumura S, Nakagawa K, et al. : KIF5B-ALK, a novel fusion oncokine identified by an immunohistochemistry-based diagnostic system for ALK-positive lung cancer. *Clin Cancer Res* (2009) 15, 3143-3149.
- 16) Togashi Y, Soda M, Sakata S, Sugawara E, Hatano S, Asaka R, Nakajima T, Mano H, Takeuchi K : KLC1-ALK : a novel fusion in lung cancer identified using a formalin-fixed paraffin-embedded tissue only. *PLoS One* (2012) 7, e31323.
- 17) Camidge DR, Bang YJ, Kwak EL, Iafrate AJ, Varella-Garcia M, Fox SB, Riely GJ, Solomon B, Ou SH, Kim DW, Salgia R, Fidias P, et al. : Activity and safety of crizotinib in patients with ALK-positive non-small-cell lung cancer : updated results from a phase 1 study. *Lancet Oncol* (2012) 13, 1011-1019.
- 18) Sakamoto H, Tsukaguchi T, Hiroshima S, Kodama T, Kobayashi T, Fukami TA, Oikawa N, Tsukuda T, Ishii N, Aoki Y : CH5424802, a selective ALK inhibitor capable of blocking the resistant gatekeeper mutant. *Cancer Cell* (2011) 19, 679-690.
- 19) Sequist LV, Gettinger S, Senzer NN, Martins RG, Jänne PA, Lilenbaum R, Gray JE, Iafrate AJ, Katayama R, Hafeez N, Sweeney J, Walker JR, et al. : Activity of IPI-504, a novel heat-shock protein 90 inhibitor, in patients with molecularly defined non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* (2010) 28, 4953-4960.
- 20) Gautschi O, Pauli C, Strobel K, Hirschmann A, Printzen G, Aebi S, Diebold J : A patient with BRAF V600E lung adenocarcinoma responding to vemurafenib. *J Thorac Oncol* (2012) 7, e23-24.
- 21) Hammerman PS, Sos ML, Ramos AH, Xu C, Dutt A, Zhou W, Brace LE, Woods BA, Lin W, Zhang J, Deng X, Lim SM, et al. : Mutations in the DDR2 kinase gene identify a novel therapeutic target in squamous cell lung cancer. *Cancer Discov* (2011) 1, 78-89.
- 22) Herbst RS, Fukuoka M, Baselga J : Gefitinib--a novel targeted approach to treating cancer. *Nat Rev Cancer* (2004) 4, 956-965.
- 23) Fujiwara K, Kiura K, Ueoka H, Tabata M, Hamasaki S, Tanimoto M : Dramatic effect of ZD1839 ('Iressa') in a patient with advanced non-small-cell lung cancer and poor performance status. *Lung Cancer* (2003) 40, 73-76.
- 24) Fukuoka M, Yano S, Giaccone G, Tamura T, Nakagawa K, Douillard JY, Nishiwaki Y, Vansteenkiste J, Kudoh S, Rischin D, Eek R, Horai T, et al. : 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.
- 25) Kiura K, Takigawa N, Segawa Y : Advanced non-small cell lung carcinoma acquired resistance to gefitinib ; in *Methods of Cancer Diagnosis, Therapy and Prognosis : General Methods and Overviews, Lung Carcinoma and Prostate Carcinoma*, Hayat, M.A. (ed), Springer, Netherlands (2008) pp307-317.
- 26) Suda K, Mizuuchi H, Maehara Y, Mitsudomi T : Acquired resistance mechanisms to tyrosine kinase inhibitors in lung cancer with activating epidermal growth factor receptor mutation--diversity, ductility, and destiny. *Cancer Metastasis Rev* (2012) 31, 807-814.
- 27) Hirsch FR, Bunn PA Jr : A new generation of EGFR tyrosine-kinase inhibitors in NSCLC. *Lancet Oncol* (2012) 13, 442-443.
- 28) Brzeznik C, Carter CA, Giaccone G : Dacomitinib, a new therapy for the treatment of non-small cell lung cancer. *Expert Opin Pharmacother* (2013) 14, 247-253.
- 29) Dutt A, Ramos AH, Hammerman PS, Mermel C, Cho J, Sharifnia T, Chande A, Tanaka KE, Stransky N, Greulich H, Gray NS, Meyerson M : Inhibitor-sensitive FGFR1 amplification in human non-small cell lung cancer. *PLoS One* (2011) 6, e20351.
- 30) Weiss J, Sos ML, Seidel D, Peifer M, Zander T, Heuckmann JM, Ullrich RT, Menon R, Maier S, Soitermann A, Moch H, Wagencr P, et al. : Frequent and focal FGFR1 amplification associates with therapeutically tractable FGFR1 dependency in squamous cell lung cancer. *Sci Transl Med* (2010) 2, 62ra93.
- 31) De Grève J, Teugels E, Geers C, Decoster L, Galdermans D, De Mey J, Everaert H, Umelo I, In't Veld P, Schallier D : Clinical activity of afatinib (BIBW 2992) in patients with lung adenocarcinoma with mutations in the kinase domain of HER2/neu. *Lung Cancer* (2012) 76, 123-127.
- 32) Marks JL, Gong Y, Chitale D, Golas B, McLellan MD, Kasai Y, Ding L, Mardis ER, Wilson RK, Solit D, Levine R, Michel K, et al. : Novel MEK1 mutation identified by mutational analysis of epidermal growth factor receptor signaling pathway genes in lung adenocarcinoma. *Cancer Res* (2008) 68, 5524-5528.

- 33) Ou SH, Kwak EL, Siwak-Tapp C, Dy J, Bergethon K, Clark JW, Camidge DR, Solomon BJ, Maki PG, Bang YJ, Kim DW, Christensen J, et al. : Activity of crizotinib (PF02341066), a dual mesenchymal-epithelial transition (MET) and anaplastic lymphoma kinase (ALK) inhibitor, in a non-small cell lung cancer patient with de novo MET amplification. *J Thorac Oncol* (2011) 6, 942-946.
- 34) Kawano O, Sasaki H, Endo K, Suzuki E, Haneda H, Yukiue H, Kobayashi Y, Yano M, Fujii Y : PIK3CA mutation status in Japanese lung cancer patients. *Lung Cancer* (2006) 54, 209-215.
- 35) Sequist LV, Waltman BA, Dias-Santagata D, Digumarthy S, Turke AB, Fidias P, Bergethon K, Shaw AT, Gettinger S, Cospier AK, Akhavanfard S, Heist RS, et al. : Genotypic and histological evolution of lung cancers acquiring resistance to EGFR inhibitors. *Sci Transl Med* (2011) 3, 75ra26.
- 36) Bendell JC, Rodon J, Burris HA, de Jonge M, Verweij J, Birle D, Demanse D, De Buck SS, Ru QC, Peters M, Goldbrunner M, Baselga J : Phase I, dose-escalation study of BKM120, an oral pan-Class I PI3K inhibitor, in patients with advanced solid tumors. *J Clin Oncol* (2012) 30, 282-290.
- 37) Zou ZQ, Zhang XH, Wang F, Shen QJ, Xu J, Zhang LN, Xing WH, Zhuo RJ, Li D : A novel dual PI3Kalpha/mTOR inhibitor PI-103 with high antitumor activity in non-small cell lung cancer cells. *Int J Mol Med* (2009) 24, 97-101.
- 38) Engelman JA, Chen L, Tan X, Crosby K, Guimaraes AR, Upadhyay R, Maira M, McNamara K, Perera SA, Song Y, Chirieac LR, Kaur R, et al. : Effective use of PI3K and MEK inhibitors to treat mutant Kras G12D and PIK3CA H1047R murine lung cancers. *Nat Med* (2008) 14, 1351-1356.
- 39) Birchmeier C, Sharma S, Wigler M : Expression and rearrangement of the ROS1 gene in human glioblastoma cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* (1987) 84, 9270-9274.
- 40) Bergethon K, Shaw AT, Ou SH, Katayama R, Lovly CM, McDonald NT, Massion PP, Siwak-Tapp C, Gonzalez A, Fang R, Hark EJ, Batten JM, et al. : ROS1 rearrangements define a unique molecular class of lung cancers. *J Clin Oncol* (2012) 30, 863-870.
- 41) Rikova K, Guo A, Zeng Q, Possemato A, Yu J, Haack H, Nardone J, Lee K, Reeves C, Li Y, Hu Y, Tan Z, et al. : Global survey of phosphotyrosine signaling identifies oncogenic kinases in lung cancer. *Cell* (2007) 131, 1190-1203.