

今、注目される呼吸器疾患治療薬

第1回：激変する肺がん治療： ドライバー変異の発見が3方向の治療戦略を展開

貫和 敏博*

Current Topic : Treatments for Respiratory Diseases

No. 1., Treatment of Lung Cancer —Why Changing Rapidly?

Discovery of Driver Mutations in NSCLC Leads to the Strategy in Three Directions

Toshihiro NUKIWA*

要旨

肺がんの治療は文字通り激変している。それは肺腺癌に高頻度見いだされる EGFR driver 変異が発見されたことに端を発する。肺がん組織は、肺がん細胞群+宿主 stromal 細胞群+宿主免疫細胞群の3群からなると概念化しうる。この3群の細胞系における薬剤の有効性は、EGFR 変異細胞群を例にとれば、がん細胞は targeting drug で、宿主 stromal 細胞群は抗 VEGF 抗体等で、宿主免疫細胞群賦活化は immune point block 抗体療法で対応しうる (Fig. 1)。従来の cytotoxic drug も EGFR 変異陽性患者群では長期予後を改善するようである。すなわち肺がん治療が、がん細胞群のみならず、宿主細胞群をも制御しうる状況が、今日の激変する治療の実態である。

1. 肺癌治療薬開発の経緯

2005年に始まった TCGA (The Cancer Genome Atlas) のプロジェクトは、2013年前後に、包括的な各種固形腫瘍のゲノム特性の論文が次々報告され、今日なお、稀少臓

器腫瘍の染色体構造改変、塩基変異の実態、更に各種がん転移巣のゲノム特性などが、top journalに報告されている。これらの成果をもとに、米国は2014年 Precision Medicineの理念をゲノム医療の基盤に据えた。しかし他種臓器がんでは、肺がん治療ほど顕著な進歩は見られない。振り返れば、肺がん治療も15年前には、効果が不十分な化学療法が行われていた。

化学療法の源流は、20世紀初頭の色素系化合物を主体とする化学合成技術を基にし、抗菌剤から始まった。第二次大戦中のマスタードガスの事故による白血球減少事例から、米国陸軍で悪性リンパ腫治療応用への方向性が生まれ、血液腫瘍剤が1950年、1960年代に開発され、その併用療法で急性骨髄性白血病の寛解がみられるようになった。しかし固形腫瘍である肺がんにはほとんど効果がなく、実際の化学療法はその腎毒性を克服して1983年日本で承認された cisplatin から始まる。1990年代に入るとイチイ属からの taxane 系薬剤 (paclitaxel, docetaxel) の臨床試験、承認が続いたが、非小細胞肺癌 (NSCLC) では、ほとんどが PR (partial remission) 止まりであった。更にフッ素系 nucleotide である gemcitabine, 葉酸代謝阻害剤 peme-

* 東北大学名誉教授 Professor Emeritus, Tohoku University
北東日本研究機構 (NEJSG) 理事長 Chief Director, North East Japan Study Group

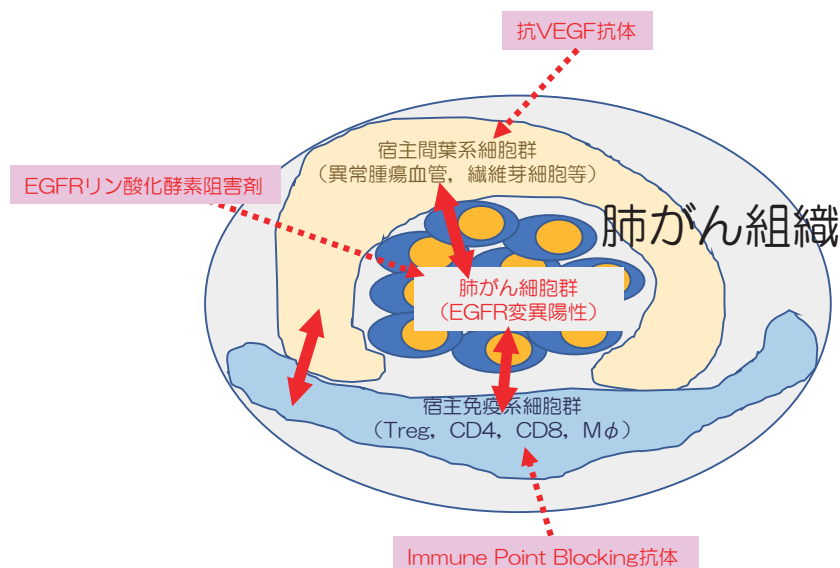


Fig.1 現代の肺がん治療を概念化した肺がん組織 schema

図は肺がん組織を構成する細胞群として，肺がん細胞群，宿主間葉系 (stromal) 細胞群，宿主免疫系細胞群に簡略化して示した．両矢印はこれら細胞群の相互作用を示す．点線矢印はこれら3細胞群への現行治療における特異的作動薬の例を示す．大きな特徴として，いわゆる分子標的薬 (EGFR 阻害薬，ALK 阻害薬も含む) ががん細胞群の細胞死を帰結する点である．これを強化して肺がん組織を崩すのが宿主間葉系細胞群への抗 VEGF 抗体等である．さらに制御 T 細胞の軛をはずし，宿主免疫系細胞群を賦活化する immune point block 抗体等の役者がそろう始めたことが治療の急激な変化としてあげられる．これらの3群への薬剤の有効な combination や，適切なバイオマーカーの探索が喫緊の課題である．

trexed が上市され，いわゆる “Platinum doublet” が標準となったが，2002年に NEJM 誌に報告された大規模臨床試験では4アームで PFS (progression free survival)，OS (overall survival) に大差はなく¹⁾，次の展開が期待される時代に入った．

2. Reverse Oncology : Gefitinib 著効例の EGF 受容体塩基解析で肺腺がん driver 変異が判明

Reverse genetics という言葉があるが，それと同じような発見が複数の Boston の研究グループから報告された．2002年に世界に先駆け日本で承認された EGF 受容体 kinase 阻害薬 gefitinib は，直後から ILD (interstitial lung disease) の発生が問題となった．一方，米国では gefitinib 有効例の EGFR 塩基配列の解析で driver 変異の存在が判明した．がん遺伝子としての明確な認識がなかった EGF 受容体であるので，この発見は reverse oncology というべきものである．2004年5月上旬，NEJM, Science の電子版に報告された内容^{2,3)}は：① EGF 受容体の細胞内リン酸化酵素ドメインに複数の特異変異が高頻度集積する．② Cos 細胞への発現実験で，変異型は gefitinib に親和性

が高く，野生型に比べ選択性がある．③日本人検体に変異型が高頻度である——という点であった．これらのうち①は，先に Sanger のグループから melanoma 臨床検体では特異 BRAF 変異が高頻度に存在する報告に共通する⁴⁾．

この driver 変異の発見の重要な点は：a) EGFR 変異獲得の意義は siRNA を用いて，がん細胞が anti-apoptosis 性質を獲得したことが確認され，その阻害効果は文字通りがん細胞死を帰結する．b) 体細胞変異であるにもかかわらず，アジア系に EGFR 変異が高頻度であるという新たな知見も確認された．しかし10年以上を経ても，その理由はなお不明である．c) gefitinib 等 EGFR リン酸化酵素阻害剤の有効性のバイオマーカーは，EGFR driver 変異の同定であるという事実で，precision medicine に繋がる．

③に関しては北東日本研究機構 (NEJSG) や西日本がん研究機構 (WJOG) が変異陽性者を対象に gefitinib vs platinum doublet のアームで臨床試験を施行し，明瞭な PFS の差を示した^{5,6)} (Fig. 2a)．同時にそれ以外の biological 指標 (アジア人，低喫煙，肺腺がん) では，PFS 曲線が交差することが，アジアを中心とする国際臨床試験で示された⁷⁾ (Fig. 2b)．こうした PFS の交差は，最近の Nivolumab の first line 臨床試験成績でも示され，患者選択におけるバイ

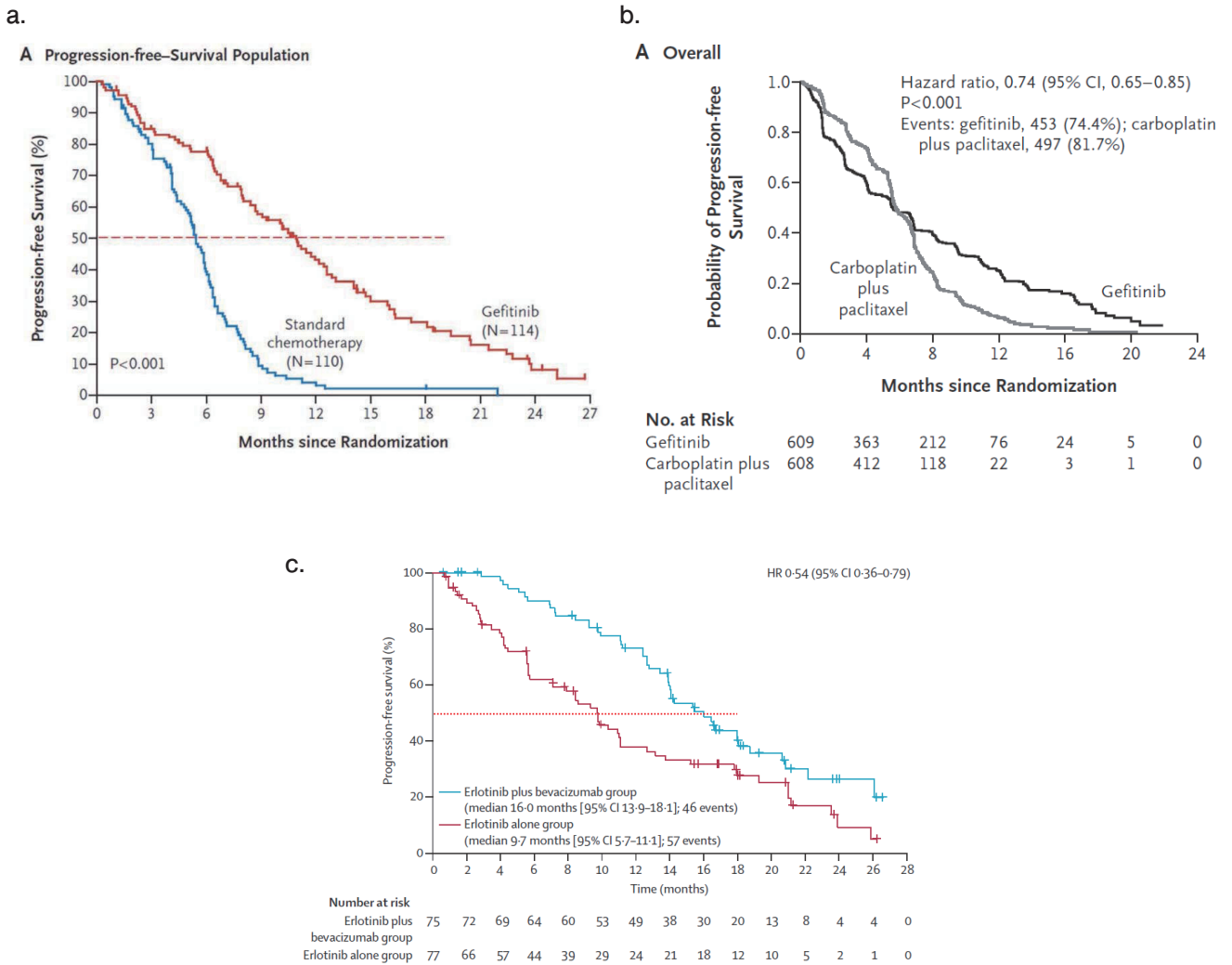


Fig.2 PFS 曲線にみる、EGFR driver 変異発見後の肺がん治療の推移

- EGFR driver 変異陽性者における分子標的薬の効果 (文献5より引用)
EGFR 変異陽性者で比較すると、Gefitinib (median PFS: 10.4M) が cisplatin+paclitaxel (同: 5.5M) に対し単剤で顕著な効果。
- 生物学的要因による患者登録での交差する PFS 曲線 (文献7より引用)
非、あるいは軽喫煙の東アジア人肺腺癌患者という生物学的な登録では、gefitinib と carboplatin+paclitaxel 比較の PFS 曲線が交差し、バイオマーカーとしての不適格性を示す。
- EGFR driver 変異陽性者における分子標的薬+抗 VEGF 抗体の効果 (文献8より引用)
EGFR 変異陽性者で比較すると、erlotinib+bevacizumab (median PFS: 16.0M) と erlotinib 単剤 (同: 9.7M) では、前者で更に顕著な PFS の差を認めた。

オマーカーとしての PD-L1 染色の採用が不備であったことを示している。

3. がん組織構成を考慮した combination 治療へ

肺腺がんにおいて EGFR driver 変異は、がん細胞生存のために強力なシグナルを流す。したがってそのリン酸化酵素阻害は生存シグナルを遮断し、がん細胞は apoptosis に陥る。腫瘍組織はいうまでもなくがん細胞集団と多様な

宿主細胞集団から成立する。がん細胞集団には targeting drug が有効であるが、他方の宿主細胞集団の関与を切り崩す有効な方法はないだろうか？ こう述べると、あたかも理論的な治療戦略に見える。実際には 2014 年に Lancet Oncology に報告された Seto らの臨床試験⁸⁾は、こうしたがん組織における dual direction combination の効果を示すものではないかと考えられる。

彼らの臨床試験は、EGFR 変異陽性患者を二つのアームで比較した。① 77 名は erlotinib + bevacizumab, ②

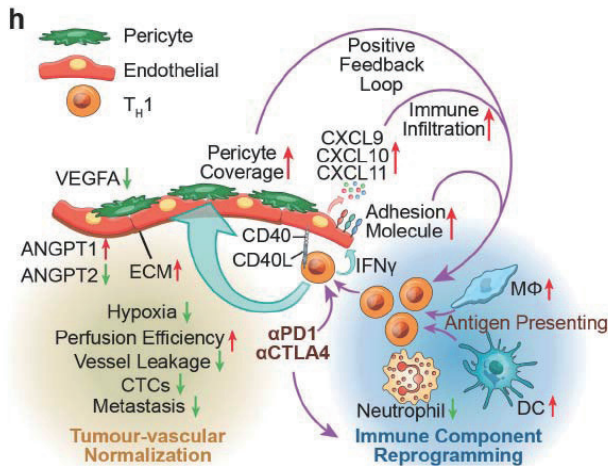


Fig.3 抗 VEGF 抗体と Th1 系免疫系の好循環 (文献 10 より引用)

CD4⁺T 細胞を介する，腫瘍血管等の正常化は，サイトカイン産生，pericyte の被服によって，ポジティブ・ループに入っていく．ICB 治療や抗原提示により，TH1 タイプの CD4⁺T 細胞がさらに増強され，血管正常化，免疫刺激再プログラム等のポジティブ・フィードバックループに入る．

77 名は erlotinib のみである．しかしその結果は非常に明瞭なものであった．PFS を比較すると①は median が 16.0 か月，②のそれは 9.7 か月であった (Fig. 2c)．こうした臨床試験で 6 か月以上の PFS の差は，背景に何らかの生物学的根拠の存在を予想させる．

combination に使われた bevacizumab (抗 VEGF 抗体) は単剤での著効例は多くない．この抗体が中和する VEGF はかねてより，腫瘍組織中の宿主 stromal 細胞が産生する事実は知られている⁹⁾．すなわち Seto らの combination は，肺がん組織における EGFR 変異陽性がん細胞を細胞死に導き，一方で宿主 stromal 細胞が組織構築シグナルに用いる VEGF を阻害し，腫瘍組織を切り崩すという dual direction の効果を示したことになる．

2017 年，Tian L らは更に抗 VEGF 抗体により，腫瘍組織異常血管に pericyte が戻り，血管機能が正常化されることを示し，しかも同時に Th1 系免疫細胞も賦活強化されると報告をしている¹⁰⁾ (Fig. 3)．つまり Seto らの臨床試験の意義は，がん細胞 apoptosis + 宿主 stromal 細胞組織構築阻害 + 宿主抗腫瘍免疫賦活化という 3 方向の好循環が作動するようになり，PFS が顕著に延長したと考えられる．これは現在私ども NEJSG の NEJ026 試験として，再確認中であるが，イベント発生 の低さからも，Seto らの成績の再確認は確実と考えられ，臨床における新たなエビデンスとなることが予想される．

4. 従来の classic cytotoxic drug の意義は何であるのか？

繰り返しになるが EGFR 変異陽性腫瘍は，それ自身が分子標的薬でがん細胞死を帰結するので，併用剤の真の効果対象を知るには，EGFR 変異陽性患者間で比較して確認することが可能である．肺がん治療が激変している背景には，この点の理解が必要である．NEJSG の NEJ002 試験においては，EGFR 変異陽性患者に targeting drug と cytotoxic drug の 2 アームで PFS の差を示した⁵⁾．しかし患者が PD となった後は，試験薬のクロスオーバーを可能とした．この患者群の長期予報を見ると，cytotoxic drug を使用した方が OS が良いと判明した．これを受けて EGFR 変異陽性者で，targeting drug と cytotoxic drug を併用するか，交互に使用するかを評価する臨床試験を行ったところ，併用群の OS が良好であった¹¹⁾ (Fig. 4)．これは現在第 III 相臨床試験として，経過追跡中であるが，やはりイベントの数は抗がん剤併用群に少ない．

これらの事実は従来の cytotoxic drug が，がん細胞以外に宿主要因にも作用し，臨床成績を改善している可能性を予想させる．その実態は何か，興味惹かれるところである．

5. 宿主免疫療法としての immune point blocker : 有効性のバイオマーカーは何か？

TCGA のプロジェクトが明らかにした，固形腫瘍における数万から 10 万前後の塩基変異 (SNP)，更には数百か所のアミノ酸置換を伴う腫瘍細胞の実態は，本来は宿主免疫監視下に攻撃を受けるはずである．しかしがん病巣自体が生体内の慢性炎症病態という側面からは，局所的免疫抑制の機構が惹起される．Regulatory T 細胞の関与である．このため腫瘍組織内にはリンパ球が侵入できない．この長年の課題は，リンパ組織における接着分子系への抗体医療で大きく前進しつつある．CTLA-4 や B7，あるいは PD-1，PD-L1 などの抗体製剤は，まず melanoma で宿主免疫賦活効果が示され，次いで患者数の多い肺がん (NSCLC) 等での効果も確認されてきた．

大きな注目の集まる immune point block 治療であるが，長期有効例は全症例の 20 ~ 25% 程度であり，何をバイオマーカーとして有効例を選択しうかが現在の課題である．これに対する研究は，2017 年に入って大きな展開が見られる．一つは免疫抑制の軛が解かれて，攻撃を開始すべき CD8 系細胞が疲弊している状況である¹²⁾．この現象には CD 28，B7 系も強く関与するとする報告がある．これに対しては NEJSG の各務らは，むしろ患者末梢血の

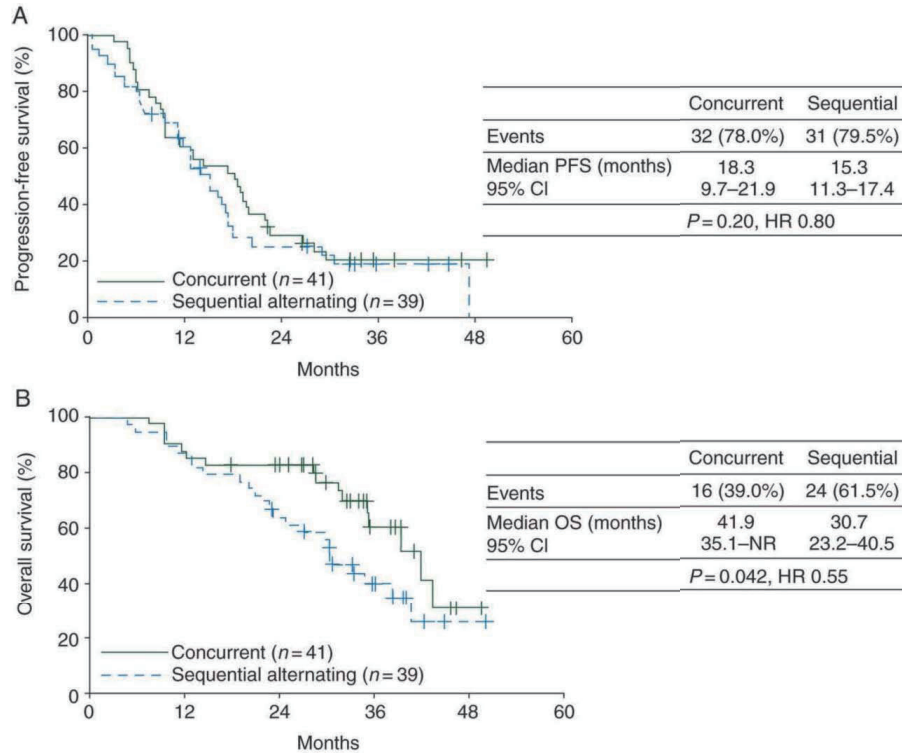


Fig.4 EGFR driver 変異陽性者における分子標的薬＋一般抗がん剤の効果 (文献 11 より引用)

もともと NEJ002 試験 (文献 5) を更に確認する一般抗がん剤使用の試験であるが, concurrent (median OS : 41.9M) と sequential (同 : 30.7M) とでは OS に明白な差が認められた. すなわち, 本文中でも述べたように, EGFR 変異陽性者を選び, その分子標的薬と併用すれば, 一般抗がん剤の役割が明らかになる. 現在 NEJ009 試験として, 第 III 相臨床試験で追跡確認中である.

CD4 系細胞をバイオマーカーとして preliminary に良好な成績を得て, 現在臨床試験を計画している. 更に PD-L1 を細胞表面に位置するために, 機能不明であった CMTM6 蛋白 (CKLF-like marvel transmembrane domain) が重要であることが報告されている¹³⁾. 一方, Patel SJ らは包括的な Crisper-Cas9 法による遺伝子ノックアウトの手技で, 細胞性免疫における MHC class I への peptide loading に必要な遺伝子群をスクリーニングし, 新規で GPCR に分類される apelin 受容体 (APLNR) が Jak 1 と会合し, interferon γ 産生を修飾することで, 宿主細胞免疫有効性に関わる所見を報告している¹⁴⁾.

もう一点注目されるのは, 関与する個々の細胞系の代謝 shift である. 近年一方で cancer metabolism, 他方で immune cell metabolism の dynamic な変化が注目されている. しかも本総説で述べるように, がん細胞群のみならず, 宿主間葉系・免疫系細胞を含んだ腫瘍組織では, その代謝シフトは相互に影響を及ぼすと考えられている¹⁵⁾. 今後の実臨床での応用の成果が期待される.

6. Immune point block 効果には癌腫にかかわらず非自己 epitope を提示する背景ゲノム条件がバイオマーカーになる

Immune point block 療法は, 一方において接着分子の状況等に有効性が作用されるが, そもそも非自己ペプチド提示の確率が大きい背景のゲノム要素も重要である. Merck 社の戦略は KEYTRUDA (pembrolizumab) の申請に, 腫瘍側ゲノム条件として microsatellite instability high (MSI-H) と mismatch repair deficient (dMMR) の固形腫瘍を対象として FDA に申請し, 2017 年 5 月末に受理された. これらの性質を持つ幅広い腫瘍群の内, 肺がんとして小細胞肺癌 (SCLC) が挙げられている¹⁶⁾. これは抗 CTLA-4 抗体や抗 PD-1 抗体の臨床応用戦略が, melanoma, NSCLC とがん腫ごとに拡大してきたのに対して, より包括的に多種腫瘍をがん免疫治療対象とする戦術として注目される.

7. 今後の肺がん治療の perspective：まとめに代えて

Cisplatin から始まった肺がん治療は，driver 変異の発見により，EGFR 阻害剤でがん細胞そのものを細胞死にいたらせる方向が見出された。分子標的薬と抗 VEGF 抗体の combination による顕著な相乗効果は，がん細胞と宿主細胞からなるがん組織の dual direction strategy を提示している。宿主といえども immune cell と stromal cell はその機能が異なるが，Tian L らの報告では，抗 stromal 治療と immune point blocker は相乗的好循環を導き出す可能性があり，この併用は近い将来の臨床試験で確認すべき課題である。すなわちがん細胞，宿主 stromal 細胞，宿主免疫細胞の3方向の治療戦略が現実化しつつある。

他方で PFS が 16 か月，18 か月となった現在の状況では，古典的な OS (overall survival) まで評価するには，臨床試験期間が長期化して，適切な情報を早期に患者に戻せない，臨床試験の更に有効な surrogate marker を真剣に考えるべき時期である。

また immune point block 療法は adverse event としての自己免疫病態も惹起する。現在探索中の immune point block 療法のバイオマーカーが使用可能になれば，この治療を受ける患者が広がることになり，自己免疫病態は更に重要な臨床的課題である。

最後に，現在は抗体製剤を用いる immune point block 治療であるが，候補ターゲット蛋白分子への作用が低分子化合物で置き換えられれば，同様の効果をより安価に提供しうる。こうした面での創薬への努力も問われる時代であると考えられる。

文 献

- Schiller, JH.; Harrington, D.; Belani, CP.; Langer, C.; Sandler, A.; Krook, J.; Zhu, J.; Johnson, DH. Eastern Cooperative Oncology Group. Comparison of four chemotherapy regimens for advanced non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2002, **346**, p.92-98.
- 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.* 2004, **350**, p.2129-2139.
- Paez, JG.; Jänne, PA.; Lee, JC.; Tracy, S.; Greulich, H.; Gabriel, S.; Herman, P.; Kaye, FJ.; Lindeman, N.; Boggon, TJ.; Naoki, K.; Sasaki, H.; Fujii, Y.; Eck, MJ.; Sellers, WR.; Johnson, BE.; Meyerson, M. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science.* 2004, **304**, p.1497-1500.
- Davies, H.; Bignell, GR.; Cox, C.; Stephens, P. et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature.* 2002, **417** (6892), p.949-954.
- Maemondo, M.; Inoue, A.; Kobayashi, K. et al. North-East Japan Study Group. Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR. *N Engl J Med.* 2010, **362**, p.2380-2388.
- Mitsudomi, T.; Morita, S.; Yatabe, Y. Negoro, S.; Okamoto, I.; Tsurutani, J.; Seto, T.; Satouchi, M.; Tada, H.; Hirashima, T.; Asami, K.; Katakami, N.; Takada, M.; Yoshio-ka, H.; Shibata, K.; Kudoh, S.; Shimizu, E.; Saito, H.; Toyooka, S.; Nakagawa, K.; Fukuoka, M.; West Japan Oncology Group. Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJ-TOG3405): an open label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2010, **11**, p.121-128.
- Mok, TS.; Wu, YL.; Thongprasert, S. et al. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. *N Engl J Med.* 2009, **361**, p.947-957.
- Seto, T.; Kato, T.; Nishio, M. 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**, p.1236-1244.
- Fukumura, D.; Xavier, R.; Sugiura, T.; Chen, Y.; Park, EC.; Lu, N.; Selig, M.; Nielsen, G.; Taksir, T.; Jain, RK.; Seed, B. Tumor induction of VEGF promoter activity in stromal cells. *Cell.* 1998, **94**, p.715-725.
- Tian, L.; Goldstein, A.; Wang, H.; Ching, Lo H.; Sun, Kim I.; Welte, T.; Sheng, K.; Dobrolecki, LE.; Zhang, X.; Putluri, N.; Phung, TL.; Mani, SA.; Stossi, F.; Sreekumar, A.; Mancini, MA.; Decker, WK.; Zong, C.; Lewis, MT.; Zhang, XH. Mutual regulation of tumour vessel normalization and immunostimulatory reprogramming. *Nature.* 2017, **544**, p.250-254.
- Sugawara, S.; Oizumi, S.; Minato, K. et al. North East Japan Study Group and Tokyo Cooperative Oncology Group. Randomized phase II study of concurrent versus sequential alternating gefitinib and chemotherapy in previously untreated non-small cell lung cancer with sensitive EGFR mutations: NEJ005/TCOG0902. *Ann Oncol.* 2015, **26**, p.888-894.
- Kamphorst, AO.; Wieland, A.; Nasti, T. Yang, S.; Zhang, R.; Barber, DL.; Konieczny, BT.; Daugherty, CZ. Koenig, L.; Yu, K.; Sica, GL.; Sharpe, AH.; Freeman, GJ.; Blazar, BR.; Turka, LA.; Owonikoko, TK.; Pillai, RN.; Ramalingam, SS.; Araki, K.; Ahmed, R. Rescue of exhausted CD8 T cells by PD-1-targeted therapies is CD28-dependent. *Science.* 2017, **355**, p.1423-1427.
- Burr, ML.; Sparbier, CE.; Chan, YC. Williamson, JC.; Woods, K.; Beavis, PA.; Lam, EYN.; Henderson, MA.; Bell, CC.; Stolzenburg, S. Gilan, O.; Bloor, S.; Noori, T.; Morgens, DW.; Bassik, MC.; Neeson, PJ.; Behren, A.; Darcy, PK.; Dawson, SJ.; Voskoboinik, I.; Trapani, JA.; Cebon, J.; Lehner, PJ.; Dawson MA. CMTM6 maintains the expression of PD-L1 and regulates anti-tumour immunity. *Nature.* 2017, **549** (7670), p.101-105.
- Patel, SJ.; Sanjana, NE.; Kishton, RJ. Eidizadeh, A.; Vodnala, SK.; Cam, M.; Gartner, JJ.; Jia, L.; Steinberg, SM.; Yamamoto, TN.; Merchant, AS.; Mehta, GU.; Chichura, A.; Shalem, O.; Tran, E.; Eil, R.; Sukumar, M.; Gujjarro, EP;

- Day, CP.; Robbins, P.; Feldman, S.; Merlino, G.; Zhang, F.; Restifo, NP. Identification of essential genes for cancer immunotherapy. *Nature*. 2017, **548** (7669), p.537-542.
- 15) Eikawa, S.; Nishida, M.; Mizukami, S.; Yamazaki, C.; Nakayama, E.; Uono, H. Immune-mediated antitumor effect by type 2 diabetes drug, metformin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015, **112**, p.1809-1814.
- 16) Le, DT.; Durham, JN.; Smith, KN. Wang, H.; Bartlett, BR.; Aulakh, LK.; Lu, S.; Kemberling, H.; Wilt, C.; Luber, BS.; Wong, F.; Azad, NS.; Rucki, AA.; Laheru, D.; Donehower, R.; Zaheer, A.; Fisher, GA.; Crocenzi, TS.; Lee, JJ.; Greten, TF.; Duffy, AG.; Ciombor, KK.; Eyring, AD.; Lam, BH.; Joe, A.; Kang, SP.; Holdhoff, M.; Danilova, L.; Cope, L.; Meyer, C.; Zhou, S.; Goldberg, RM.; Armstrong, DK.; Bever, KM.; Fader, AN.; Taube, J.; Housseau, F.; Spetzler, D.; Xiao, N.; Pardoll, DM.; Papadopoulos, N.; Kinzler, KW.; Eschleman, JR.; Vogelstein, B.; Anders, RA.; Diaz, LA, Jr. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. *Science*. 2017, **357**, p.409-413.