



Title	EGFR遺伝子変異陽性非小細胞肺癌におけるosimertinib耐性とNotch経路の関わりに関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	高橋, 宏典
Description	配架番号 : 2734
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第15203号
Issue Date	2022-09-26
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/87662
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	TAKAHASHI_Hirofumi_review.pdf



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 高橋 宏典

主査 教授 松野 吉宏
審査担当者 副査 教授 田中 伸哉
副査 教授 加藤 達哉

学 位 論 文 題 名

EGFR 遺伝子変異陽性非小細胞肺癌における
osimertinib 耐性と Notch 経路の関わりに関する研究
(Studies on Notch pathway regulates osimertinib drug-tolerant persistence
in *EGFR*-mutated non-small cell lung cancer)

Osimertinib は *EGFR* 遺伝子変異陽性 NSCLC に対して高い抗腫瘍効果を示すが、多くの患者はいずれ耐性を獲得する。近年、drug-tolerant persister (DTP) 細胞は標的薬剤への感受性が著しく低下した細胞集団と定義され、非遺伝的獲得耐性として注目されている。Notch 経路は様々な組織の分化に重要な経路である。Notch 経路活性化が *EGFR*-TKIs 耐性に関与することが報告されているが、osimertinib DTP 細胞における Notch 経路についての報告は乏しい。そのため申請者は osimertinib DTP 細胞の発生に Notch 経路が関与しているか、Notch 経路が osimertinib に対する耐性克服の標的になり得るかを検討した。申請者は *EGFR* 遺伝子変異陽性細胞株 (PC-9、H1975、HCC827) を osimertinib に 9 日間曝露し、既報の特徴を有する DTP 細胞を作製した。この DTP 細胞で Notch 経路が活性化され、 γ -secretase inhibitor (GSI) 併用により *in vitro* および *in vivo* での腫瘍増殖が抑制されること、またこの細胞ではリン酸化 *EGFR* 発現が低下してもリン酸化 ERK 発現が低下しなかったが、GSI を併用することで DUSP1 を介してリン酸化 ERK 発現を低下させ、腫瘍増殖を抑制する可能性を報告した。また臨床検体において *EGFR*-TKIs 治療後に Notch1 と HES1 が高発現していることを報告した。

審査にあたり、まず副査の加藤教授から (1) DTP 細胞に GSI を併用することで小細胞癌への転化などに影響を与えるか、(2) DTP 細胞の G1 静止期は薬剤投与中止で改善するか、(3) HES1 が蛋白と mRNA で上昇しているが Notch 以外の上流シグナルについて検討したか、(4) 臨床検体の治療期間について質問があった。申請者は (1) に対して今回の検討では Notch 経路や既報の β -catenin 経路などは確認したが、それ以外の経路や耐性機序に関して十分には検討できていないこと、(2) に対して耐性への可逆性を MTT

assay で確認したが細胞周期は確認していないこと、(3) に対して HES1 関連のシグナル検索は必要と考えており、今後 over expression やノックダウンでの検索を予定していること、(4) に対して *EGFR*-T790M 検索症例を用いているため前治療期間やレジメンを統一できていないのがリミテーションであることを回答した。副査の田中教授からは (1) 9 日目では Pre-DTP 細胞の可能性があり、腫瘍再増殖を認める 15 日目以降を DTP 細胞として定義するのが妥当ではないか、(2) 細胞株によっては *in vivo* にて腫瘍体積が治療開始時点よりも減少していないこと、(3) DTP 細胞における C797S 検索について質問があった。申請者は (1) に対して複数の既報に基づいた検討で 9 日目と定義しており、また薬剤投与期間が長期に及ぶと確立した耐性細胞へと移行する可能性があること、(2) に対して PC-9 と H1975 で *EGFR* 遺伝子変異が異なっており、それが差に繋がった可能性があること、(3) に対して今回は Notch 経路に重点を置いて検討しており、*EGFR* 遺伝子の二次性変異は検討していないことを回答した。最後に主査の松野教授から (1) 今回の臨床検体集積における選択バイアス、(2) 免疫組織化学以外の方法によるタンパク発現の検証について、(3) 今後の DTP 細胞に対する臨床デザインについて質問があった。申請者は (1) に対して今回の検討では評価可能な十分な腫瘍細胞数を含む症例に対象を限定しているため、症例数と検体条件の均一性の担保が必ずしも十分でないこと、(2) に対して FFPE 検体からの RNA 発現解析等も検討したが、十分な腫瘍組織量を確保出来なかったことが、それぞれリミテーションであることを回答した。(3) に対して DTP 細胞の機序として一つのシグナル変化ではなく複数の変化が関与していることが分かってきており、初期から標的薬剤以外の薬剤も併用することが重要と考察されることを回答した。

この論文は、osimertinib DTP 細胞の出現に Notch 経路が重要な役割を担っていることを明らかにし、GSI と osimertinib の併用が *EGFR* 遺伝子変異陽性 NSCLC 患者における治療戦略の 1 つになる可能性を明らかにした点において高く評価され、今後の DTP 細胞の治療において重要な役割を示すことが期待される。以上の審査を経て、審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せて、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。