

論文審査及び最終試験又は学力の確認の結果の要旨

甲・乙	氏名	Eshat Fahmida Haque
学位論文名	Concurrent Pemetrexed With EGFR-TKI Slows the Accumulation of De Novo Mutations During In Vitro Exposure	
学位論文審査委員	主査	田村 研治 印
	副査	和田 孝一郎 印
	副査	松本 健一 印

論文審査の結果の要旨

上皮細胞成長因子受容体(EGFR)変異をもつ非小細胞肺癌(NSCLC)ではオシメルチニブ(OSI)、ゲフィチニブ(GEF)等のチロシンキナーゼ阻害剤(EGFR-TKI)が有効だが、治療中に高頻度で獲得耐性が出現する。治療中のがん細胞において、新規(de novo)変異蓄積は耐性獲得のひとつの要因である。EGFR-TKIにペメトレキセド(PEM)を同時併用すると臨床効果を延長する試験結果が複数報告されているが、一方でPEMを投与する事でチミジン枯渇とウラシル増加によるDNA複製ストレスをがん細胞に生じると考えられる。しかし、これまでPEM併用時のde novo変異蓄積への影響は不明であった。本研究は、EGFR-TKI単剤と比較してEGFR-TKI+PEM併用がDNA複製・修復応答を変え、耐性獲得までの期間に生じるde novo変異の蓄積速度を調節するという仮説を検証した。EGFR変異肺腺がん細胞株で短期感受性と薬剤相互作用を評価し、長期モデルには唯一EGFR-TKIとPEMの両方に短期感受性を示したPC-9を用いた。PC-9をOSI単剤、GEF単剤、OSI+PEM、GEF+PEM、OSI+GEFのいずれかで連続曝露し、増殖力が回復するたびに濃度を段階的に上げて耐性獲得までの期間を比較した。結果、耐性出現までの時間はOSI単剤11週、GEF単剤16週に対し、OSI+PEMは約62週、GEF+PEMは約44週と大きく延長した。一方でOSI+GEFは各単剤と比べて延長効果が得られなかった(約11週)。各細胞における蓄積した変異の代理指標として腫瘍遺伝子変異量(TMB)とマイクロサテライト不安定性(MSI)を解析した。治療後では全ての例でTMBやMSIが増加したが、併用群は単位時間当たりのTMB/週、MSI/週が単剤群より低く、PEM併用が変異蓄積速度を抑えることが示された。次に機序を確認する実験を行い、PEM併用では複製ストレス指標であるp-CHK1を増加させる一方、POLE2、POLQ、MLH1、BRCA1/2、RAD51、FEN1など複製・修復関連遺伝子群の発現がEGFR-TKI単剤より上昇し、ゲノム維持応答が強化される可能性が示唆された。したがって、本研究ではPEM誘導複製ストレスが変異原性を高めるという懸念に反し、耐性獲得までの時間を延長しつつde novo変異の蓄積速度を低下させ得る事を示した。

最終試験又は学力の確認の結果の要旨

申請者はPC-9(EGFR変異 exon 19 del)細胞株を用いて、PEMをEGFR-TKIと併用することによりEGFR-TKIに対する獲得耐性遅らせ、その原因がMSI-high, TMBの蓄積を抑制であることを示した。この結果には新規性、再現性がある。又、今後のEGFR変異陽性進行肺癌治療の臨床応用(治療シーケンス)にも繋がる。Exon 19 delという特定のEGFR変異株の結果であること、又、PEMのチミジル酸合成酵素(TS)阻害作用と、この獲得耐性遅延との関連性は明らかではないが、論理的思考、周辺知識も十分であることから学位授与に値すると判断した。(主査: 田村 研治)

申請者はEGFR変異NSCLC培養細胞系を用いてPEMとEGFR-TKIの併用による耐性獲得抑制について検討を行った。その結果PEMの併用により変異株のEGFR-TKIに対する耐性獲得までの時間が延長し、de novo変異の蓄積も抑制するという作用機序を明らかにした。本研究はPEMとEGFR-TKI併用療法における重要な知見を提供するものであり、周辺知識も極めて豊富であることから学位授与に値すると判断した。(副査: 和田 孝一郎)

申請者は、PC-9細胞を用いて、EGFR-TKI単剤と比較してのEGFR-TKI+PEM併用による耐性獲得までの期間を検討した。その結果、併用により、de novo変異の蓄積速度の低下と複製・修復遺伝子の発現亢進が明らかとなり、耐性獲得までの期間の延長が認められた。本研究成果は、今後の臨床応用にも重要な知見を与え、審査時の質疑応答も適切で関連知識も豊富なことから、学位授与に値すると判断した。(副査: 松本 健一)