

## 博士の学位論文審査結果の要旨

申請者氏名      濱 川 侑 介

横浜市立大学大学院医学研究科   呼吸器病学

### 審 査 員

主 査	横浜市立大学大学院医学研究科 分子病理学 主任教授 藤井 誠志
副 査	横浜市立大学大学院医学研究科   がん総合医科学 主任教授 市川 靖史
副 査	横浜市立大学附属病院 臨床検査部 講師 桐越 博之

## 博士の学位論文審査結果の要旨

Association of PD-L1 tumor proportion score  $\geq 20\%$  with early resistance to osimertinib in patients with *EGFR*-mutated NSCLC

(*EGFR* 遺伝子変異陽性非小細胞肺癌における PD-L1 発現レベルと  
オシメルチニブの早期耐性化との関係)

◇◇◇◇…………… 本 文 ……………  
要旨 (序論・方法・結果・考察・結語)

### 1. 序論

上皮成長因子受容体 (Epidermal Growth Factor Receptor: *EGFR*) チロシンキナーゼ阻害薬 (Tyrosine Kinase Inhibitor: TKI) は, *EGFR* 遺伝子変異陽性非小細胞肺癌 (Non-Small Cell Lung Carcinoma: NSCLC) に対する一次治療として広く使用されている (Hanna et al., 2017; Novello et al., 2016). *EGFR* 遺伝子変異の約 90%を占めるエクソン 19 欠失変異 (exon 19 deletion: ex19del) またはエクソン 21 L858R 点変異 (L858R substitution) は, EGFR-TKI 感受性変異として知られている (Mitsudomi and Yatabe, 2007). 一方, エクソン 20 T790M 点変異 (T790M substitution) は第一・二世代 EGFR-TKI に対する耐性変異である (Oxnard et al., 2011; Yu et al., 2013).

オシメルチニブは, 血液脳関門透過性の高い不可逆的な第三世代 EGFR-TKI であり, EGFR-TKI 感受性変異および T790M 耐性変異の両者を阻害する (Ballard et al., 2016). これらの特性により, オシメルチニブは第一世代 EGFR-TKI と比較して良好な治療成績を示すことが報告されている (Soria et al., 2018). 患者によってはオシメルチニブに早期耐性を示すことがある.

オシメルチニブの早期耐性化のリスク因子としては、遺伝子変異の種類（L858R は ex19del よりも早期耐性化リスクが高い）（Ramalingam et al., 2020）や複合遺伝子変異（compound mutation）の存在が知られている（Hellyer et al., 2022）。近年、免疫チェックポイント阻害薬による肺癌治療が確立したことを背景に、プログラム細胞死リガンド 1（Programmed cell Death-Ligand 1: PD-L1）発現レベルと EGFR-TKI の早期耐性化との関連について注目され始めているが、これまで一定の見解が得られていない。第一世代 EGFR-TKI に関する研究では、PD-L1 高発現は予後因子とならないとする報告がある一方で（Cho et al., 2018; Tang et al., 2015）、予後因子となることを示す報告もある（Soo et al., 2017; Su et al., 2018; Liu et al., 2021）。第三世代 EGFR-TKI であるオシメルチニブについては、PD-L1 の高発現が予後因子となるかどうかは更に議論が分かれており、エビデンスは非常に乏しい現状である。そこで本研究では、EGFR 遺伝子変異陽性 NSCLC において、PD-L1 発現レベルがオシメルチニブの予後因子であるか、後ろ向きに検討を行った。

## 2. 実験材料と方法

本研究では、EGFR 遺伝子変異陽性 NSCLC における PD-L1 発現レベルと、オシメルチニブの早期耐性化との関連を後ろ向きに検討した。2018 年 9 月から 2022 年 12 月までの間に、横浜市立市民病院で EGFR 遺伝子変異陽性（ex19del または L858R）の切除不能の進行・再発の NSCLC と診断され、オシメルチニブによる一次治療を受けた 64 例を対象とした。PD-L1 の発現レベルは、免疫組織化学染色（anti-PD-L1 clone 22C3 pharmDx®）により評価し、PD-L1 に陽性を示す腫瘍細胞数 ÷ 生存腫瘍細胞の総数 × 100 で算出される Tumor Proportion Score (TPS) で数値化した。Mok et al. (2019) らが報告した KEYNOTE-042 試験を参考に TPS のカットオフ値は 20%と設定し、PD-L1 TPS ≥ 20%群と PD-L1 TPS <20%群で無増悪生存期間

(Progression-Free Survival: PFS) をカプランマイヤー法と log-rank 検定を用いて比較した。また、PFS に対する予後因子を検討するため、Cox 比例ハザードモデルによる多変量解析を実施した。本研究は横浜市立市民病院倫理委員会の承認番号 Z241101 のもとで実施された。

## 3. 結果

PD-L1 TPS ≥ 20%群は 22 例（年齢中央値 70.5 歳[範囲: 33-86 歳]、女性 45.5%、喫煙歴有 50%、Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status (ECOG PS)

0-1/2/3/4 が 16/4/1/1 例) であり, このうち ex19del 陽性が 11 例, L858R 陽性が 11 例であった. 転移部位としては副腎転移 2 例 (9.1%), 骨転移 9 例 (40.9%), 肝転移 6 例 (27.3%), 症候性 CNS 転移 1 例 (4.5%), 無症候性 CNS 転移 1 例 (4.5%) を認めた. 一方, PD-L1 TPS <20%群は 42 例 (年齢中央値 73 歳[範囲: 43-88 歳], 女性 69%, 喫煙歴有 28.6%, ECOG PS 0-1/2/3/4 が 33/6/3/0 例) であり, ex19del 陽性が 21 例, L858R 陽性が 21 例であった. 転移部位としては副腎転移 6 例 (14.3%), 骨転移 21 例 (50%), 肝転移 5 例 (11.9%), 症候性 CNS 転移 5 例 (11.9%), 無症候性 CNS 転移 9 例 (21.4%) を認めた. 両群間で患者背景に有意な差は認められなかった.

PFS の生存解析では, PD-L1 TPS  $\geq$  20%群の PFS 中央値は 9.1 ヶ月, PD-L1 TPS <20%群の PFS 中央値は 28.1 ヶ月であり, PD-L1 TPS  $\geq$  20%群で有意に PFS が短縮していた (log-rank  $p = 0.013$ ).

Cox 比例ハザードモデルによる多変量解析 (因子は, 年齢, 性別, 喫煙歴, PS  $\geq$  2, PD-L1 TPS  $\geq$  20%, L858R 変異, 症候性 CNS 転移, 肝転移で調整) において, PD-L1 TPS  $\geq$  20%は PFS に対する予後因子であることが示された (ハザード比: 2.35, 95%信頼区間: 1.09-5.08,  $p = 0.030$ ). L858R 変異 (ハザード比: 2.26, 95%信頼区間: 1.06-4.83,  $p = 0.035$ ) と症候性 CNS 転移 (ハザード比: 4.21, 95%信頼区間: 1.35-13.07,  $p = 0.013$ ) も予後因子として同定された.

#### 4. 考察

本研究により, *EGFR* 遺伝子変異陽性 NSCLC において, PD-L1 TPS  $\geq$  20%の発現はオシメルチニブの早期耐性化と関連することが示唆された. この知見は, 個別化医療の観点から, オシメルチニブによる治療戦略の最適化において重要な意義を持つ可能性がある. PD-L1 発現レベルがオシメルチニブの早期耐性化の予後因子となった分子生物学的な機序は不明であるが, PD-L1 発現レベルが, 何らかの耐性機序のサロゲートマーカーになっている可能性が考えられる. 本研究の限界として, 後ろ向き単施設研究であることや, compound mutation の評価が実施できていない点が挙げられる. 今後は, 多施設共同による前向き研究や compound mutation を含めた包括的な遺伝子解析による検証が必要である. また, PD-L1 発現レベルに基づく治療戦略の最適化や, 新規治療法の開発に向けた更なる研究の進展が期待される.

#### 5. 結語

本研究では, *EGFR* 遺伝子変異陽性 NSCLC における PD-L1 発現レベルと, オシメ

ルチニブの早期耐性化との関連について後ろ向きに検討を行った。その結果、PD-L1 TPS  $\geq$  20%の発現は、オシメルチニブの早期耐性化と有意に関連することが明らかとなった。

## 質疑応答詳細

本学位審査会では、EGFR 遺伝子変異陽性非小細胞肺癌における PD-L1 発現と第 3 世代 EGFR-TKI であるオシメルチニブの治療効果および耐性機序に関する議論が展開された。

一般論として、PD-L1 TPS の値は EGFR 遺伝子変異陽性の場合、EGFR 遺伝子変異陰性の場合と比較して低い傾向にあることが確認された。実際、本研究対象である EGFR 遺伝子変異陽性肺癌においては、PD-L1 が低発現の症例が約 3 分の 2 を占めており、EGFR 遺伝子変異陽性肺癌では PD-L1 が高発現の症例の頻度は少ないと考えられると回答された。

現時点では、PD-L1 の発現率は非小細胞肺癌の予後因子というよりも、免疫チェックポイント阻害薬の効果予測因子として位置づけられている点が明確にされた。

オシメルチニブが早期耐性化した集団においては様々な背景があると考えられ、特に PD-L1 が低発現で予後良好とされた集団においても初期にオシメルチニブに耐性化している症例があったが、それらの症例では PS が不良であることや薬剤性間質性肺疾患の発症によりオシメルチニブの継続が困難となった、などの臨床的な特徴が認められたことが回答された。この点について、PS 不良例で EGFR-TKI の効果が不十分となる理由としては、有害事象発生率の上昇や宿主の免疫状態低下が抗腫瘍効果に影響している可能性が示唆された。

オシメルチニブが耐性化していく過程については、徐々に新たな耐性化遺伝子が発現することが関与していると考えられるとの見解が示された。そして、研究の結論に最も関係している点としては、Oncogene addiction が高い腫瘍では EGFR-TKI の効果が良好である一方、腫瘍内不均一性が高い症例では早期に耐性化する傾向にあるとの見解が提示された。

治療法としては、オシメルチニブは主として 1st line で使用され、基本的には単剤投与であるが、最近では細胞障害性抗癌剤との併用療法も承認されていることが説明された。加えて、次世代 EGFR-TKI については開発が進んでおり、承認は近いと予想されているが次世代の EGFR-TKI では有害事象も多いことを考慮すると、しばらくはオシメルチニブの 1st line での治療における優位性が維持されると予測された。したがって、本研究の臨床的意義については、オシメルチニブの位置づけが肝細胞癌における TKI の位置づけと同様にしばらく変わらないものであれば、より結果の重要性が増すと指摘された。

非小細胞肺癌の効果判定に関しては、造影効果の変化などで治療効果を評価する肝細胞癌と異なり、腫瘍径による評価が主であり、非小細胞肺癌におけるEGFR-TKIによる治療では肝細胞癌に比較して腫瘍縮小が期待できることが多いためと説明された。

全生存期間に有意差が認められたことは、症例数や観察期間が十分であったことを示す注目すべき点であり、その理由としては後療法の影響が大きいと考えられると回答された。なお、オシメルチニブの早期耐性化を評価する上では、無増悪生存期間と奏効率を主体に評価することが適切であるとの意見も提示された。

統計解析については、両群間の患者背景において群間差のP値が0.1の項目が多いことが指摘され、統計学的手法で極端な偏りのある症例を除いた再解析の意義が提案された。

PD-L1 TPSのcut-off値の検討において、ROC曲線のAUCが0.649と十分でないにもかかわらず20%という値が採用された背景については、過去の臨床試験で用いられた値であることが主な根拠として説明された。このcut-off値の設定については、学位論文のmethodsであらかじめ設定根拠を示していたため、学位論文の査読の過程では、査読者からの指摘はなかったと報告された。

免疫組織化学的検討では、PD-L1発現率の測定は外注で行われ、各症例の具体的なPD-L1発現率も調査されており、中等度のPD-L1発現の頻度は少ない傾向にあったことが確認された。実際、肺組織でのPD-L1発現は0%付近、50%付近、100%付近での発現率を多く経験するため、cut-off値として20%という発現率の選択には違和感があるとの指摘もなされた。また、wild typeの非小細胞肺癌におけるPD-L1発現率に関しては、詳細な検証は行われていないものの、同様に中等度発現の頻度は低いように思われると報告された。

今後の研究課題としては、PD-L1 TPS 20%前後の中等度発現症例での転帰と病理組織像との関係の比較、PD-L1発現の有無による遺伝子発現の差の解析など、より詳細な個別解析の必要性が強調された。特に、早期耐性化の理由を既知の文献を統合して包括的に説明しようとする試みでは不十分であり、真の耐性化機序の解明には個別の詳細な解析が必要であるとの見解が共有された。

次世代シーケンサーによる解析については、遺伝子変異の調査は実施されているものの、変異アレル頻度が判明しているのはごく少数であり、今後の研究ではこうした点も含めた詳細な解析が望ましいとの結論に至った。

最後に、複雑な状況下で腫瘍微小環境の変化を全て捉えることは難しく、in vitroとin vivoの研究が一致しないこともしばしばあるため、早期耐性化の機序の検証、および本研究結果の妥当性の更なる検証にあたって、効果的なアプローチ法の確立は今後の重要な検討課題として認識された。

以上の学位審査により、博士（医学）の学位授与に値すると判断された。