

# 肺癌の個別化治療のための肺生検からの遺伝子学的多様性解析

辻野一郎<sup>1)</sup>, 高橋典明<sup>1)</sup>, 中西陽子<sup>2)</sup>

## Analysis of the genetic polymorphism from lung biopsy to decide personalized therapy

Ichiro TSUJINO<sup>1)</sup>, Noriaki TAKAHASHI<sup>1)</sup>, Yoko NAKANISHI<sup>2)</sup>

### 要旨

増殖シグナル伝達経路の様々な遺伝子変異は、ドライバー変異として非小細胞肺癌(NSCLC)の進展に深く関与していることから、治療標的分子として着目されているが、個々の遺伝子変異が癌の悪性度や治療感受性に及ぼす影響については未だ不明である。そこで我々は、NSCLC進行例の経気管支鏡的肺生検を対象として腫瘍細胞の遺伝子変異解析を行い、増殖シグナル活性の指標となるリン酸化(p)ERKの発現強度と比較した。この結果、pERKの核内発現強度は、ドライバー変異の種類によって異なることが明らかとなり、予後と相関、治療奏功性と逆相関の傾向を示した。以上よりpERKはNSCLCの予後ならびに治療抵抗性予測因子として有用と考える。

### 1. はじめに

近年、癌細胞の増殖シグナルに関与するチロシンキナーゼ(TK)を恒常的に活性化するドライバー遺伝子変異<sup>1)</sup>が次々に発見され、治療標的分子となっている。肺癌では上皮細胞増殖因子受容体(EGFR)遺伝子変異<sup>2)</sup>あるいはanaplastic lymphoma kinase(ALK)融合遺伝子<sup>3)</sup>が代表的であるが、その対象患者の割合は多くはない。化学療法の奏功性も個人差は大きく、個別化治療のための新たな指標の探索は急務である。本研究では、RAS-RAF-MAP kinaseの活性化の指標としてERKのリン酸化に着目し、その強度とEGFシグナリング関連遺伝子変異との関係、さらに治療および予後との関係を進行非小細胞肺癌症例について明らかにすることを目的として、経気管支鏡的肺生検検体におけるpERKの蛋白発現と肺癌との関係が知られるドライバー変異の有無を検討した。

### 2. 対象及び方法

対象は2009年から2010年に呼吸器内科を受診し

非扁平上皮非小細胞肺癌と診断し得た110例(年齢 $68 \pm 9.7$ 歳, 男女比78:32, 喫煙91例, 病期ⅢB-Ⅳ期86例)のパラフィン生検組織とした。pERK蛋白発現は免疫組織化学によりallredスコアで評価した。遺伝子変異解析は、生検切片よりレーザーマイクロダイセクション法<sup>4)</sup>で回収した腫瘍細胞を用いてQuenching Probe法<sup>5)</sup>, リアルタイムRT-PCR法で行い、SPSS version 20 (IBM)を用い統計解析を行った。

### 3. 結果

pERK蛋白発現は110例中84例(75.9%)に陽性で発現強度には差を認めた。pERK発現強度と遺伝子異常の関係を検討した結果、EGFR変異例はpERK低スコア群に、KRAS変異例、BRAF変異例は中～高スコア群に見られる傾向が示された(図1)。pERK発現スコアと患者の生存期間中央値を比較すると陰性、低、中、高スコア群で各々480日、450日、210日、180日と逆相関の傾向を示し、生存分析でもpERK中～高スコア群で予後不良の傾向が示された(図2)。

1) 日本大学医学部呼吸器内科学分野

2) 日本大学医学部病理学分野

辻野一郎: tsujino.ichiro@nihon-u.ac.jp

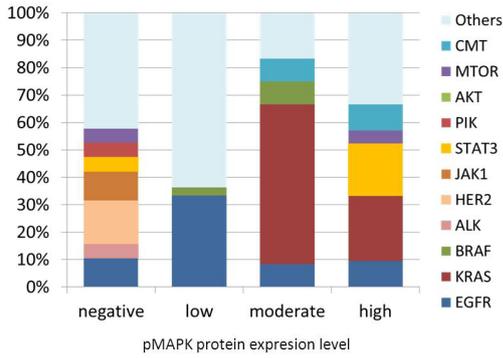


図1 Phospho ERK1/2発現レベルと遺伝子背景

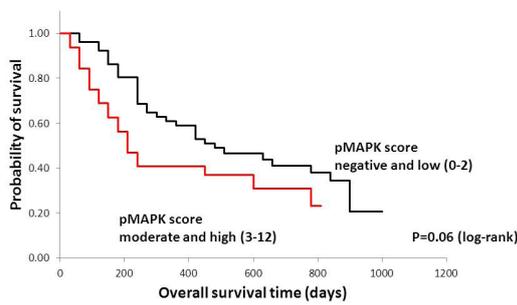


図2 Phospho ERK1/2の発現レベルと予後

pERK発現強度と標準化学療法の奏効率との関係は、pERK陰性、低、中スコア群で各々90.9%、73.6%、50.0%であり、スコアに応じて奏効率が低下した。

#### 4. 考察

正常ではERKは増殖刺激によりリン酸化されるが、ドライバー変異によりERKが恒常的に活性化されシグナル伝達に関与する場合、免疫組織化学により腫瘍の核染色像が高度に見られることが示され

た。特にKRAS変異群はpERKが高発現で予後不良であったことから、pERK染色はKRAS変異例スクリーニングへの応用が期待される。現在、肺癌の保険診療ではEGFRおよびKRAS遺伝子検査の同時算定は認められず、TKI導入をめぐる保険診療上の問題の一つである。今回検討したpERK発現レベルは、ドライバー変異を示唆する上、治療耐性予測因子ともなり得ることから、日常測定可能な肺癌個別化治療の新たな指標として有用と考える。

#### 5. 結語

進行非小細胞肺癌においてpERK発現強度はの癌のドライバー変異の種類で異なり、治療効果や予後と関係するため個別化治療の指標として有用である。

#### 文献

- 1) Pao W, Girard N. New driver mutations in non-small-cell lung cancer. *Lancet Oncol.* 2011;**12**:175-180.
- 2) Pao W, Miller VA. J. Epidermal growth factor receptor mutations, small-molecule kinase inhibitors, and non-small-cell lung cancer: current knowledge and future directions. *J Clin Oncol.* 2005;**23**:2556-2568.
- 3) Soda M, Choi YL, Enomoto M, et al. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature* 2007; **448**: 561-6.
- 4) Nakanishi Y, Shimizu T, Tsujino I, et al. Semi-nested real-time reverse transcription polymerase chain reaction methods for the successful quantitation of cytokeratin mRNA expression levels for the subtyping of non-small-cell lung carcinoma using paraffin-embedded and microdissected lung biopsy specimens. *Acta Histochem Cytochem.* 2013;**46**:85-96.
- 5) Ureshino N, Aragane N, Nakamura T, et al. A fully integrated and automated detection system for single nucleotide polymorphisms of UGT1A1 and CYP2C19. *Oncol Res.* 2011;**19**:111-4.