

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¹⁾, 高橋典明¹⁾, 中西陽子²⁾

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

Ichiro TSUJINO¹⁾, Noriaki TAKAHASHI¹⁾, Yoko NAKANISHI²⁾

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、ドライバー変異不明で化学療法による治療群も多く存在する。そこで我々は、平成24年度は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。さらに平成25年度はプラチナ系抗癌剤感受性への関与が示唆されているDNA修復遺伝子に着目し、遺伝子変異解析を行った。これらの結果、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。またERCC1遺伝子に関してはドライバー変異群とは独立してC118T変異が予後因子となることが示された。以上よりEGFRシグナル伝達経路依存群ではpERKはNSCLCの予後ならびに治療抵抗性予測因子として有用であり、非依存群ではERCC1 C118T遺伝子変異が予後因子となり、新たな治療標的となる可能性が示唆された。

1. はじめに

上皮成長因子受容体(EGFR)シグナル伝達は、上皮性腫瘍の増殖・進展において重要である。近年、癌のドライバー変異として、シグナル伝達経路上の遺伝子に活性型の変異が生じることにより、基質非依存性のシグナル伝達が誘導されることが明らかとなったことから、ドライバー変異はNSCLCの治療標的分子としても着目されている¹⁾。我々はこれまで、進行非扁平上皮型NSCLC症例を対象として、ドライバー変異とextracellular signal-regulated kinase(ERK)1/2のリン酸化について検討を行ってきた。Rat sarcoma viral oncogene homolog(RAS)-ERK経路において、EGFR変異症例よりも、KRAS変異症例でpERKが高発現であること、さらに、KRAS変異症例を含む、pERK高発現症例は治療抵抗性であるか、あるいは治療適応がなく予後不良であることが確認された。Mitogen activated protein

kinase(MEK)-ERK kinase(MEK)阻害剤によるpERK発現低下効果が示されており²⁾、pERK発現は現在有効な治療の乏しい予後不良例の選定に有用と考えられた。しかしながら、NSCLCにおいてドライバー変異が不明で化学療法が選択される症例も多い。そこで本年度は、プラチナ系抗癌剤感受性との関連が示唆されている³⁾が、遺伝子変異との関係は明らかとなっていないexcision repair cross-complementation group 1(ERCC1)遺伝子変異について検討を行った。

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NSCLCと診断し得た50例(年齢68.5歳、男女比35:15、喫煙42例、病期ⅢB-Ⅳ期42例)のパラフィン生検組織とした。ERCC1遺伝子変異解析は、ERCC1 C118T変異とC8092A変異について、生

1) 日本大学医学部内科学系 呼吸器内科学分野
2) 日本大学医学部病態病理学系 病理学分野
辻野一郎: tsujino.ichiro@nihon-u.ac.jp

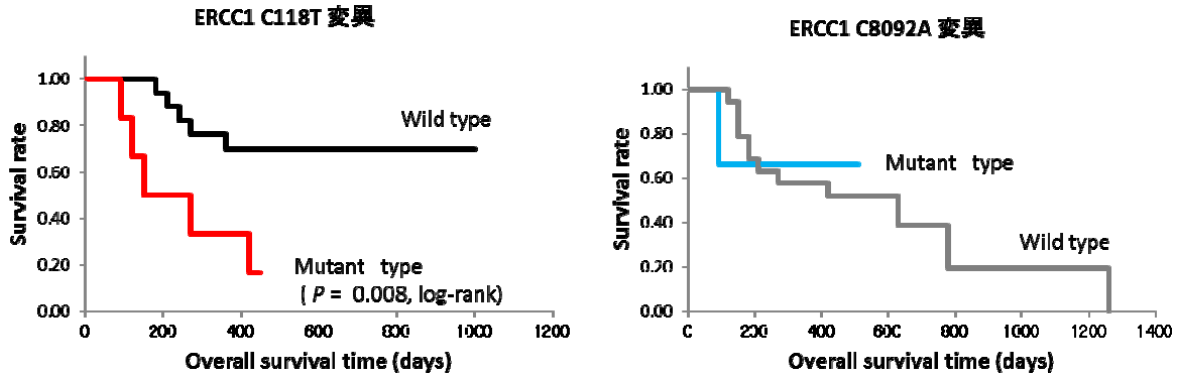


図 1 ERCC1 遺伝子変異と生存期間. ERCC1 C118T 変異症例は、全生存期間の中央値が8.3か月で、非変異症例の25.9か月に対して有意に予後不良であった ($P = 0.008$). 一方、ERCC1 C8092A 変異が検出された症例は少なく、変異の有無による予後の有意な差異は認められなかった。

表 1 Multivariate analysis using Cox model

factor	Median Survival	Hazard ratio	95% CI	P value
ERCC1 C118T mutated	8.3	2.45	1.10-5.46	0.02*
pERK high expression	11.6	0.89	0.72-1.09	0.26
KRAS mutated	12.8	0.76	0.09-6.24	0.80

検切片よりレーザーマイクロダイセクション法⁴⁾で回収した腫瘍細胞からDNAを抽出し、i-densy 5320を用いたQuenching Probe法⁵⁾で行い、SPSS version 20 (IBM)を用いて統計解析を行った。

3. 結果

遺伝子変異解析の結果、ERCC1 C118T 変異は9例、ERCC1 C8092A 変異は2例より検出された。ERCC1 変異陽性例は、平成25年度に解析したEGFR, KRAS, BRAF, ALKなどのdriver mutationは全て野生型であった。

ERCC1 C118T変異例は有意に生存期間が短く、予後不良であった(図1)。

多変量解析の結果、ERCC1 C118T変異群は、平成24年度に高悪性群であることが確認されたpERK高発現群、KRAS変異群と比較してもOSが有意に短く、独立予後因子と考えられた(表1)

4. 考察

平成24年度および25年度の検討結果から、非扁平上皮NSCLCにおいて、癌細胞の増殖がEGFRシグナル伝達経路の活性強度に依存する場合は、IHC

によるリン酸化ERKの評価が、治療耐性で且つMEK阻害剤の効果が期待される症例の選定に有用である可能性が示唆された。一方、EGFRシグナル伝達上の遺伝子異常と相互排他的に存在する傾向が示されたERCC1遺伝子異常のうち、特に、C118T変異が予後因子であることが示された。ERCC1遺伝子異常のようにDNA修復機能が遺伝子変異などにより欠陥を生じると、PARPなどの別のDNA修復機構が誘導され、DNA損傷型の抗癌剤に耐性を示すことが知られている。このような遺伝子背景を有する症例群では、第二のDNA修復機構を阻害するPARP阻害剤などの補助療法の効果が期待される。

5. 結語

NSCLCにおいてpERK発現強度は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。また、EGFRシグナル伝達経路非依存的な群ではERCC1遺伝子異常が治療耐性に関与する予後因子となり、新たな治療標的となる可能性が示唆された。

文献

- 1) Pao W, Girard N. New driver mutations in non-small cell lung cancer. *Lancet Oncol*. 2011; 12: 175-180.
- 2) Hainsworth JD, Cebotaru CL, Kanarev V, Ciuleanu TE, Damyranov D, Stella P, Ganchev H, Pover G, Morris C and Tzekova V: A phase II, open-label, randomized study to assess the efficacy and safety of AZD6244 (ARRY-142886) versus pemetrexed in patients with non-small cell lung cancer who have failed one or two prior chemotherapeutic regimens. *J Thorac Oncol* 5: 2010; 5: 1630-1636.

- 3) Wang TB, Zhang NL, Wang SH, Li HY, Chen SW, Zheng YG. Expression of ERCC1 and BRCA1 predict the clinical outcome of non-small cell lung cancer in patients receiving platinum-based chemotherapy. *Genet Mol Res.* 2014; **13**: 3704-10.
- 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.