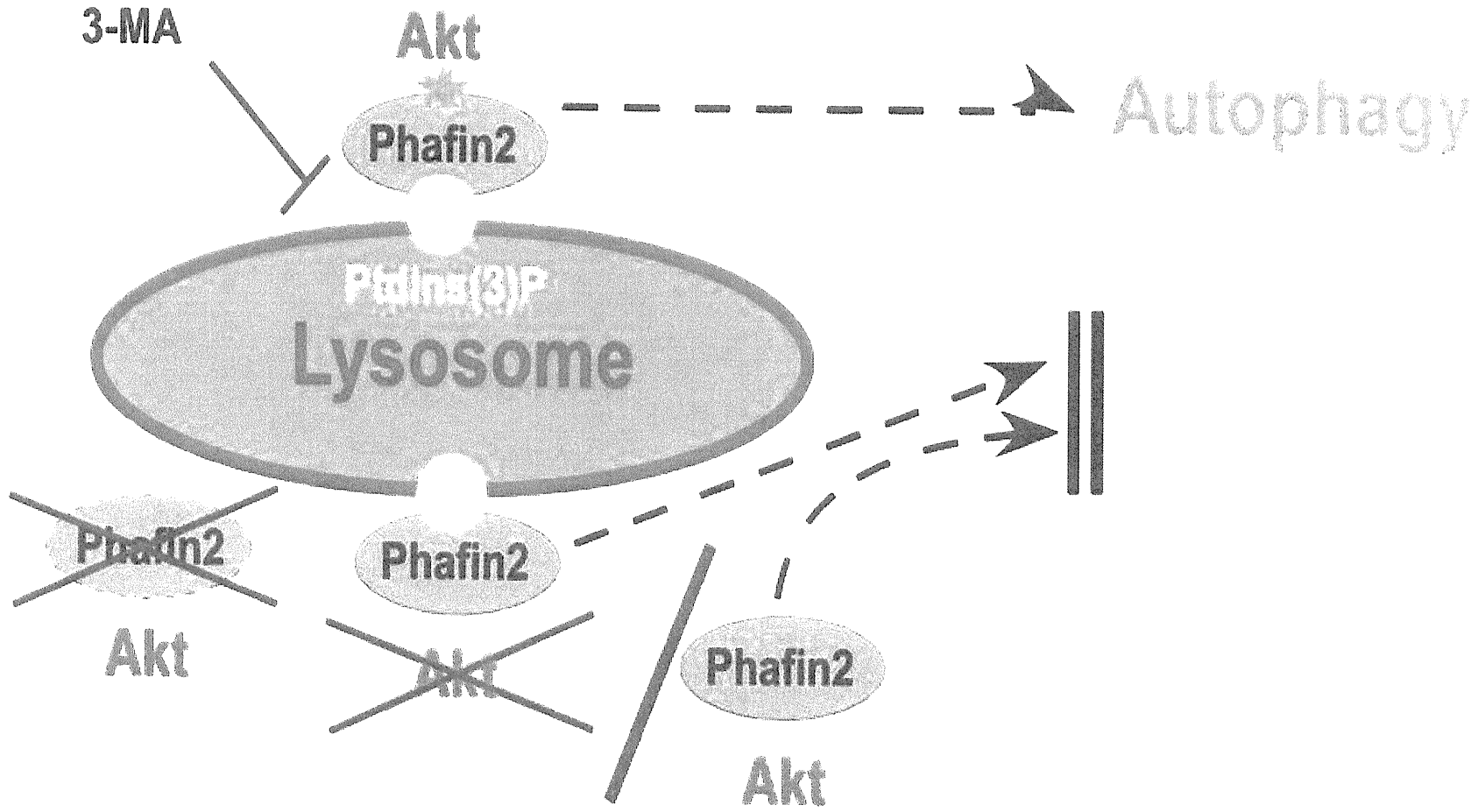
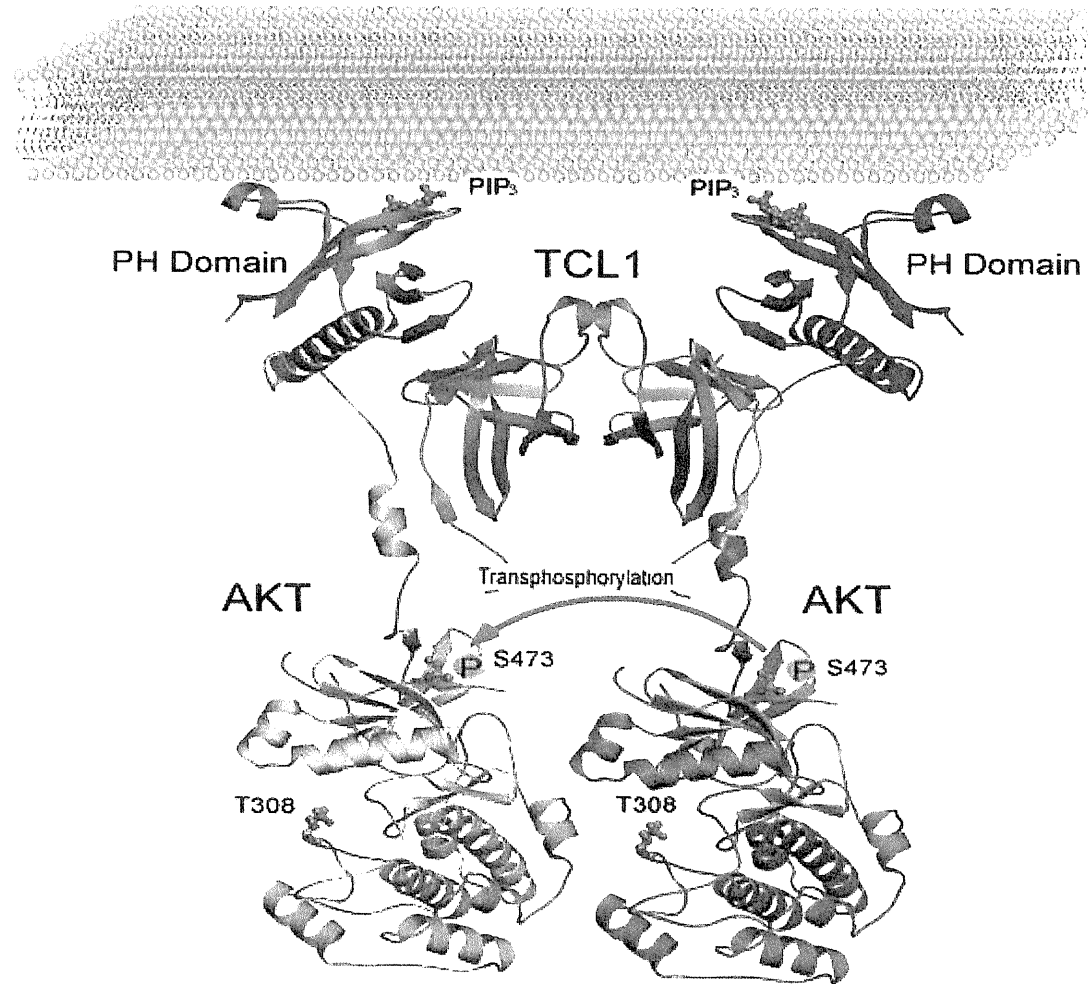


Results

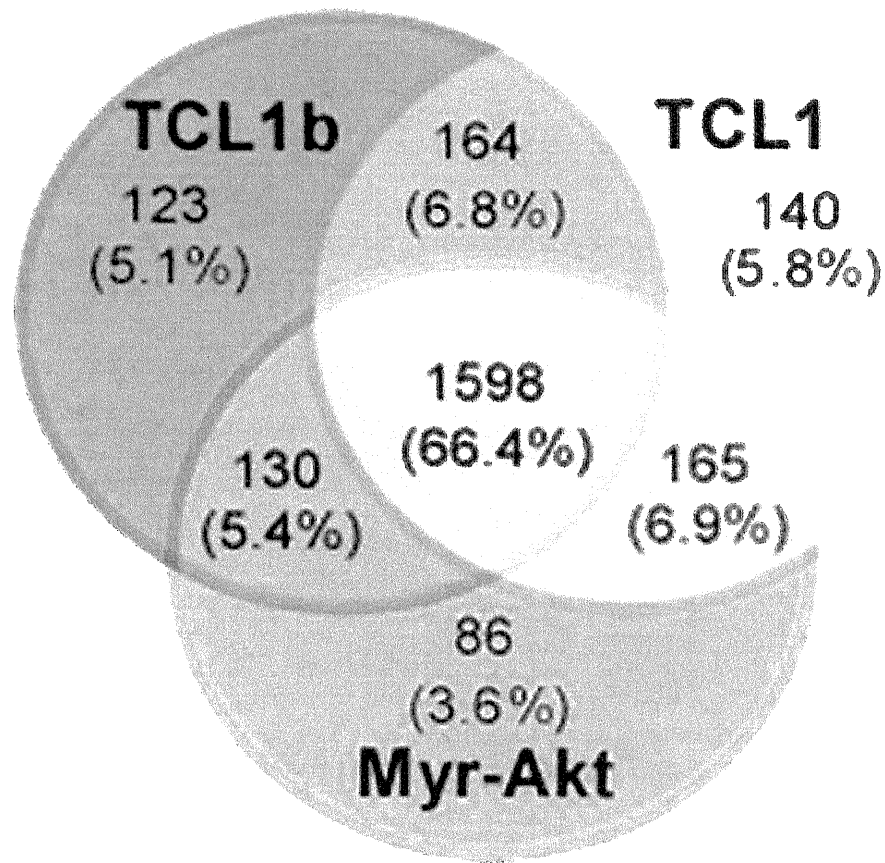


TCL1

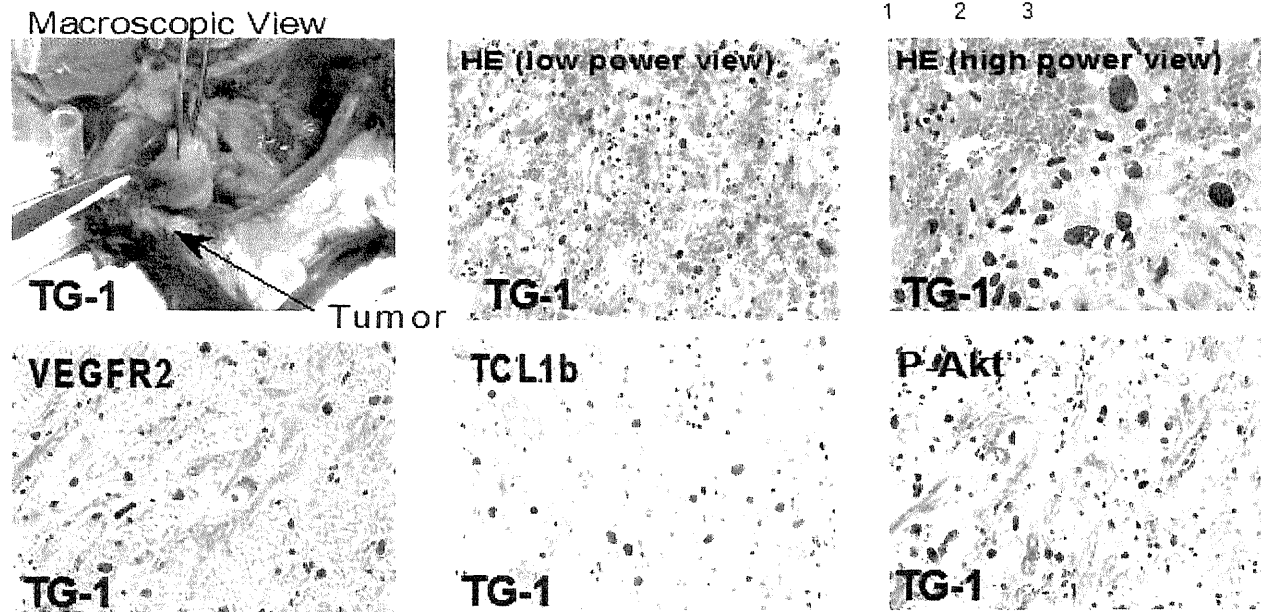
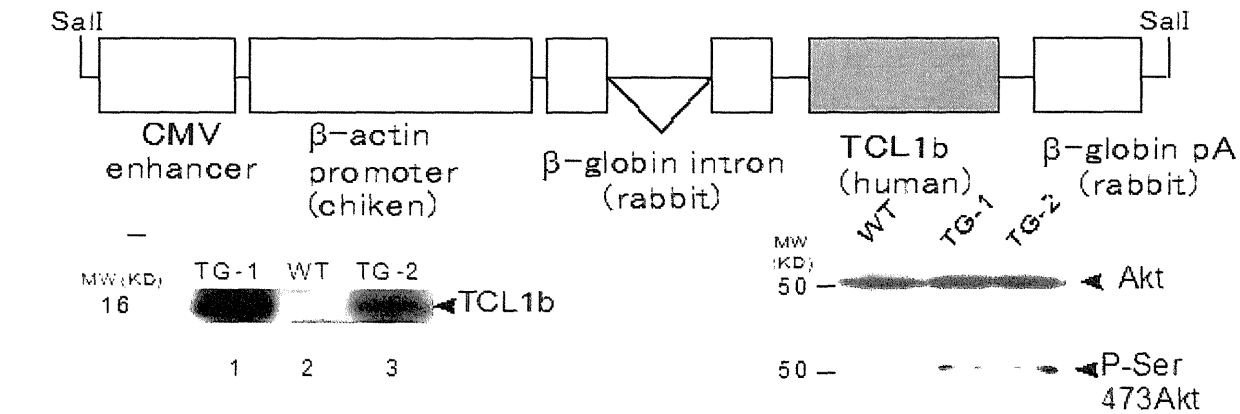
as an AKT Kinase Co-activator



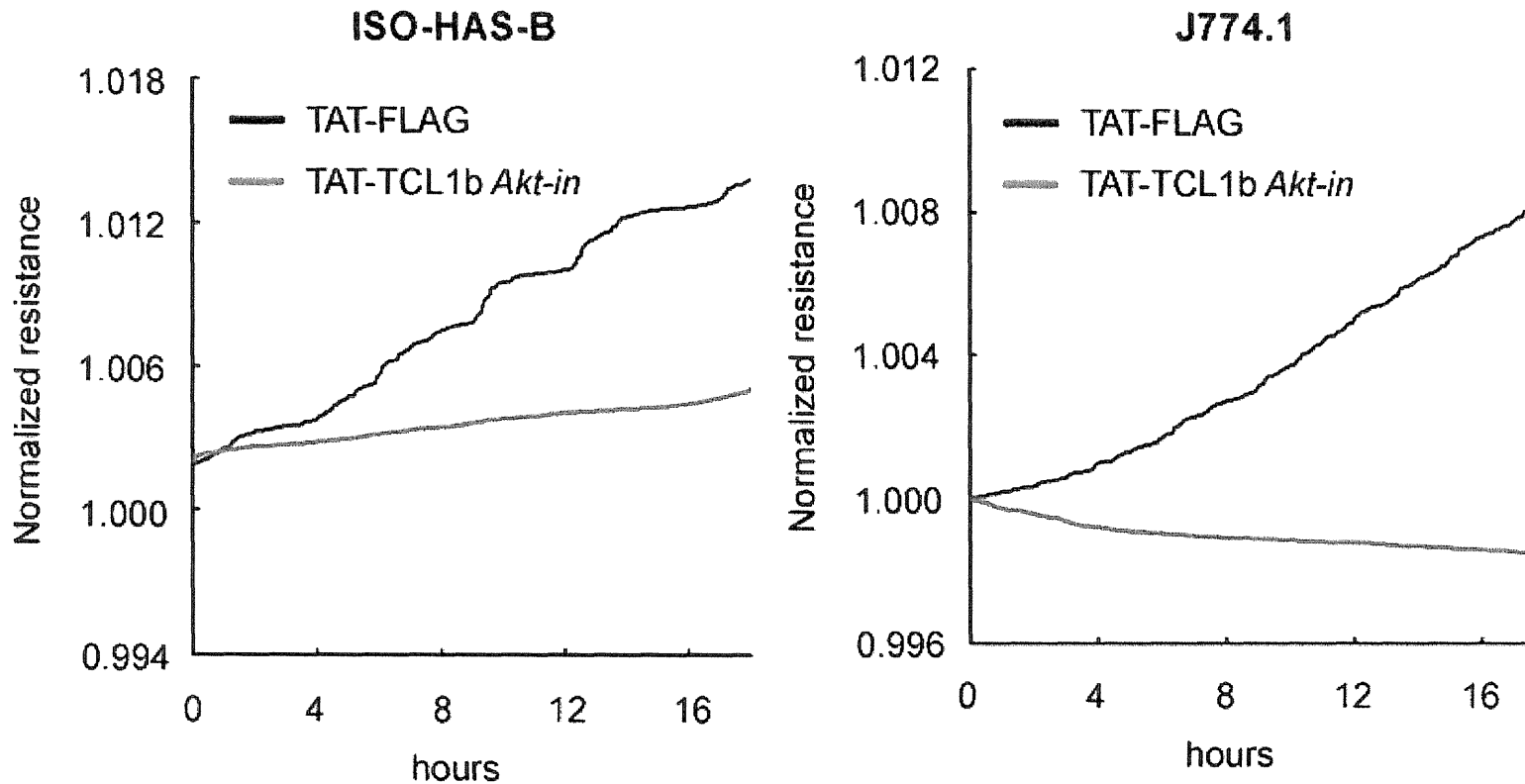
Similar sets of gene transcripts were simultaneously regulated by TCL1b, TCL1, and Myr-Akt



β -actin Driven Deregulated TCL1b Mice Resulted in Hemangiosarcoma.



“TCL1b-Akt-in” efficiently Inhibited Cell growth of sarcoma



TCL1 Akt-in

TCL1b Akt-in

1 11 21
 maecptlgeAVTDHPDRLWAWKEKfvyl
 RLGVP**PPGRLWIQRPG**
 Akt-in

【難治性進行肺癌の分子標的治療効果を向上するための治療抵抗例に関する研究】

分担研究者 加藤 靖文 東京医科大学病院 呼吸器・甲状腺外科 講師

研究要旨

本研究は、未だ満足に行く治療成績を得られていない進行肺癌・肺癌術後再発治療の向上を目的として、分子標的治療薬である上皮成長因子受容体(EGFR)チロシンキナーゼ阻害薬(EGFR-TKI)の奏効率の向上にある。EGFR-TKIは腫瘍細胞のEGFR遺伝子変異がある症例に非常に有効性が高いことが実証され、治療選択を決めるのにEGFR遺伝子は極めて重要な因子となっているが、EGFR変異を有するにも関わらず25-30%の症例ではEGFR-TKIが奏効しないことを経験する。これらを検討することにより、治療に有効な診断法の確立し、コスト削減・診断の簡便化・迅速性の図り、ひいては、“難治性肺癌の個別化治療”の確立のために診断方法の開発・基礎的検討を行うことを目的とした。免疫組織学的染色によるIGF-1Rの蛋白高発現は、非小細胞肺癌患者のGefitinib治療の抵抗を予測できる可能性を示唆し、また、IGF-1Rの蛋白高発現は、低発現に比べて、短い全生存期間と無再発期間を示したため、IGF-1Rの蛋白発現はEGFR-Tkiの耐性を示す臨床的バイオマーカーになる可能性も示された。

A. 研究目的

肺癌は胃癌を抜いて、日本人の癌死のトップとなって久しいが、2009年の肺癌死は年間約7万人となり、肺癌治療の確立が急務となっている。近年、画像診断(CT, PET等)の進歩により、以前に比べ、肺癌の早期発見・治療が可能となってきた。しかし、IA期ですら、5年生存率80%と外科切除された症例でも転移・再発が認められ、満足に行く結果とはいえないのが現状である。II期、III期になると60%, 50%と更に厳しい現状が伺われる。そのため、近年、オーダーメイド治療として主要の特徴に基づいて多岐にわたる治療法の選択が求められている。新しい考え方に基づく診断・治療法の確立が急務である肺癌患者の個別治療の基礎データを集積検討する必要がある。

今日の肺癌の確定診断は組織診もしくは細胞診である。確定診断は手術の検体をもって、確実な診断が得られるが、半数以上を占める進行癌の非手術例は経気管支肺生検、もしくは、透視下生検で行われるが得られる腫瘍の極一部であることと透視で映らない病変に対してのアプローチが困難であった。21世紀になり、気管支鏡の進歩により、超音波を使用することで今まで透視で映らなかった病変やリンパ節の確定診断も可能になった。それとともに肺癌の確定診断は治療法の変化により、病理組織検査や遺伝子検査を正確に行うことが求められ、更に微小

検体でも確実に診断なされることが求められる。

最近の新規抗癌剤や分子標的治療薬の開発により、診断から治療への流れが大きく変化しようとしている。従来からの形態学的診断に加え、上皮成長因子受容体(EGFR)変異や欠損、逆位転座によるEML4-ALK融合蛋白の出現が個別化治療の重要な因子となりつつある。EGFR遺伝子変異陽性のIV期の非小細胞癌には、上皮成長因子受容体(EGFR)チロシンキナーゼ阻害薬(EGFR-TKI)が初回治療の選択肢と成り得ることが日本肺癌学会のガイドライン(<http://www.haigan.gr.jp>)に記載されている。

EGFR-TKIは腫瘍細胞のEGFR遺伝子変異(exon 19の欠失、exon 21の点突然変異:L858Rなど)がある症例に非常に有効性が高いことが複数の臨床試験で実証され治療選択を決めるのにEGFR遺伝子は極めて重要な因子である。そして、EGFRに遺伝子変異のある肺癌は約80%の症例において、EGFR-TKIであるGefitinibやErlotinibが奏功するが、EGFR変異を有するにもかかわらず25-30%の症例ではEGFR-TKIが奏効しないことも経験する。そこでEGFR変異を有するが奏効しない症例、EGFR変異を有さないがEGFR-TKIが奏功した症例を検討し、治療に有効な診断法の確立を目指すことが本研究の背景である。

現在、このexon 19の欠失、exon 21の点突然変異は、保険適応となっているEGFR遺伝子検査をもって、行われている。一方、遺伝子検査は

高額であるため、安価で簡便な診断方法のため、免疫組織学的染色の抗体も近年、開発され、感度、特異度共に良好な結果を示している。そして、Gefitinib の治療抵抗予測因子として、

IGF-1R が陽性になる傾向にあることを研究してきた (図 2)。そこで本研究は、Gefitinib の治療抵抗予測因子の探索を主目的とし、IGF-1R を免疫組織学的染色することにより、検索する。

図2

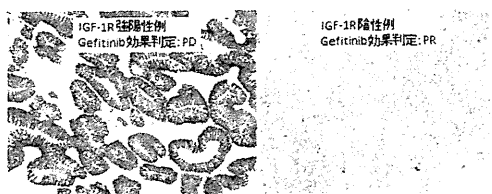
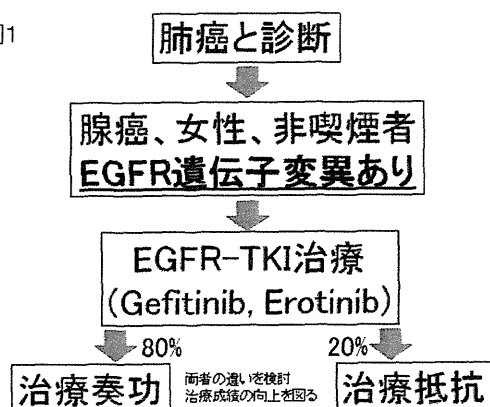


図1



B. 研究方法

肺癌で EGFR-TKI の治療例の手術検体標本 98 例から作製された Tissue Microarray 検体を用い、EGFR-TKI の効果を規定する EGFR 遺伝子変異の hot spot である exon19 の欠損 (E746-A759del.) と exon 21 (L858R) の点変異を免疫組織学的染色 : exon 19 (E746-A750del.) と exon 21 (L858R) を施行し、各々の腫瘍内の蛋白の発現の分布を同定する。

免疫組織学的染色で得られた過剰発現部位と欠如部位と治療抵抗予測因子としての可能性を秘めた c-MET, IGF-1R を免疫組織学的染色し、発現量、部位等を比較検討する。そして、臨床情報を比較することにより、EGFR-TKI 奏功例と抵抗例、各々の詳細な蛋白発現・遺伝子変異の有無を比較することにより、肺癌における EGFR 変異の異常のタイプを明らかにする。

免疫染色のスコアリングは、Hybrid scoring system (0-400; 0 を陰性で 400 を全領域の強陽性) を用い、統計解析には、SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL) を用いた。

倫理面への配慮

実際の検体の採取は通常の検体検査に出した残りを使用する。基本的に当研究は、手術診断が得られた後のホルマリン固定のパラフィン検体を用いる予定であるのでこの研究によって実際の治療法に影響を与えることはないものである。

実験はすべて体外で行われるため、検体供給者に不利益や危険を与えることはない。前述のとおり、臨床診断に支障をきたさない範囲で肺癌の固形悪性手術材料や、径気管支鏡・経皮的針生検より得られた肺癌生検材料を研究に用いることは、病院内の倫理委員会で承認を得ている。この研究はいかなる場合も被検者の同意に基づいて行われる。

患者より採取した組織を使用する際は「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に則り、人間の尊厳及び人権を尊重し研究を適正に実施する。患者由来滑膜細胞の使用に関しては、本学医学倫理委員会に承認され当委員会の方針に準じ、臨床コーディネーターの管理の下、書面によるインフォームドコンセント、ならびに匿名化による個人情報の特定できない試料のみを使用する。

C. 研究結果

56 例の EGFR 変異 (Gefitinib が著効する Exon 19 が 28 例、exon 21 が 16 例) と 37 例の wild type

であった。Gefitinib の治療効果は、抵抗例 (Progression disease; PD)群が 19 例で治療奏功 (Disease control; DC = 5 Complete response + 16 Partial response + 47 Stable disease) 群が 68 例であり、これらの IGF-1R の蛋白発現は PD 群と DC 群を比べると IGF1R 陽性群は蛋白発現が多く (H score; 中央値 170) に対し IGF1R 陰性群は H score が 120 で統計学的に優位 ($p=0.001$) に PD 群で高値であった。ROC 曲線より、カットオフ値を H score の 165 に設定すると PD の感度 68%, 特異度 73%であった。全生存は、IGF-1R 陽性群の中央値が 13.2 か月で陰性群が 22.6 か月で優位に短かった ($p = 0.00190$)。無再発生存期間は、IGF-1R 陽性群の中間生存 3.5 か月で陰性群の 12.0 か月で優位に短かった ($p = 0.0020$)。55 人の EGFR 変異のある群を解析すると PFS は IGF-1R 陽性群 (9.5 か月) が陰性群 (17.9 か月) より優位に短かった ($p = 0.0435$)。また、cut off を 10% (H score の 40) に設定しても全生存は、38.6 か月と 15.7 か月で統計学的有意差 ($p=0.0295$) をもって、IGF-1R 陰性群が長い結果であった。

耐性を示す臨床的バイオマーカーになる可能性も示された。

D. 考察

今回の研究で IHC による蛋白発現で治療予測因子としての IGF-1R の可能性が示唆された。EGFR-TKI 治療の効果という観点から、EGFR-TKI の無再発生存に有意差を認めた点は非常に有意義であると考えられる。しかし、対象が術後再発であった (検体が大きく、微小検体特有の問題点を避けるため) ため、初回治療例だけでなかったため、2 次治療以降の症例であると前治療の影響は否定出来ない面がある。そのため、今後はこの結果を踏まえ、1 次治療例を対象に検証を行うとともに mRNA、プロテオーム解析を加えることにより、今回の結果を検証するとともに検討数を増加させ、検証する。

E. 結論

IHC による IGF-1R の蛋白高発現は、非小細胞肺癌患者の Gefitinib 治療の抵抗を予測できる可能性を示唆し、また、IGF-1R の蛋白高発現は、低発現に比べて、短い全生存期間と無再発期間を示したため、IGF-1R の蛋白発現は EGFR Tki の

