

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	高 橋 剛 士
論文題目	Clinicopathologic Features of Non-Small-Cell Lung Cancer with <i>EML4-ALK</i> Fusion Gene (EML4-ALK 融合遺伝子を有する非小細胞肺癌の臨床病理学的特徴)		
(論文内容の要旨)			
【背景】			
echinoderm microtubule-associated protein-like 4 (EML4)遺伝子と anaplastic lymphoma kinase (ALK)遺伝子からなる融合遺伝子が非小細胞肺癌で発見され、高度な ALK チロシンキナーゼ活性を有して癌化に深く関与していることが報告された。ALK チロシンキナーゼ阻害剤が EML4-ALK 融合遺伝子を有する癌細胞の増殖能抑制作用、癌病巣の縮小効果を示すことから、「分子標的治療」への臨床応用が期待されている。そこで EML4-ALK 融合遺伝子を有する非小細胞肺癌の臨床的病理学的な特徴を解析した。			
【対象と方法】			
平成 13 年 5 月から平成 17 年 7 月までに京都大学呼吸器外科で切除された非小細胞肺癌 313 症例を対象とした。(1) 腫瘍から作成した cDNA を用いて RT-PCR 法を行い、融合遺伝子のスクリーニングを行った。EML4 遺伝子エクソン 2 およびエクソン 13 上に forward プライマーを、ALK 遺伝子エクソン 20 上に reverse プライマーを設計した。(2) スクリーニングされた融合遺伝子を direct sequencing 法により塩基配列を決定し、融合形式を解析した。(3) 腫瘍から精製したゲノム DNA を用いた PCR-SSCP 法により EGFR 遺伝子 (エクソン 18-21)、ERBB2 遺伝子 (エクソン 19-20) の塩基配列変異をスクリーニングした。KRAS 遺伝子 (コドン 12) については PCR-RFLP 法により塩基配列変異のスクリーニングを行った。			
【結果】			
1) 313 症例中 5 症例に EML4-ALK 融合遺伝子が見られた。2 種の未報告の融合形式を発見した。1 例では EML4 遺伝子エクソン 20 と ALK 遺伝子エクソン 20 との融合間に ALK 遺伝子イントロン 19 の 3' 端 18 塩基対が介在していた。もう 1 例では EML4 遺伝子エクソン 17 と ALK 遺伝子エクソン 20 融合間に 3 種類の ALK イントロン成分が介在していた。ALK のイントロン配列が EML4 遺伝子-ALK 遺伝子間の融合形成に何らかの影響を与えている可能性が考えられた。			
2) EML4-ALK 融合遺伝子を有する全 5 症例は全て腺癌であった。			
3) 211 例を占める腺癌内での解析では、EML4-ALK 融合遺伝子を有する群では優位に喫煙係数が小さかった ($p<0.001$)。また優位に低分化型が多く占めた ($p<0.01$)。			
4) EML4-ALK 融合遺伝子を有する腫瘍では、EGFR、KRAS、ERBB2 の各遺伝子に変異は認められなかった。			
5) EML4-ALK 融合遺伝子を有する 5 例中、病理病期 1A 期の 2 人はそれぞれ肺葉切除による完全切除術のみで 60 ヶ月、66 ヶ月無再発生存中である。残り 3 例は病理病期 3A 期症例であり、全例が完全切除術後に化学療法を受けている。1 例は術後 73 ヶ月後の肺内再発に対する肺葉切除術および術後化学療法を受け、初回手術 99 ヶ月後生存中である。1 例は手術 16 ヶ月後に多発臓転移が見られ、全脳照射及び化学療法を行ったが手術 28 ヶ月後に癌死した。残り 1 例は手術 8 ヶ月後に単発の臓転移が出現したが、γナイフ治療及び化学療法を行い初回手術 53 ヶ月後まで生存した。			
【結果】			
EML4-ALK 融合遺伝子は、腺癌症例にのみ観察された。低分化型、女性、非喫煙患者に多く認められた。進行期症例であっても、適切な治療を行えば比較的長期の生存が得られる可能性が考えられた。EGFR、KRAS、ERBB2 遺伝子変異は認められなかった。			

（論文審査の結果の要旨） 本論文は、313 例の非小細胞肺癌検体から echinoderm microtubule-associated protein-like 4 (EML4) と anaplastic lymphoma kinase (ALK) からなる融合遺伝子を有する症例の臨床病理学的特徴を明らかにしようとしたものである。 EML4-ALK 融合遺伝子の検索を行うと同時にその融合形式を決定し、未知の 2 タイプの融合形式につき詳細に解析した。病理組織学的には融合遺伝子を有する腫瘍は全例腺癌であり低分化型が多く占めること、また患者群の臨床的背景として有意に喫煙係数が少ないことを明らかにした。EGFR、KRAS、ERBB2 の各遺伝子の変異の有無を検索し、EML4-ALK 融合遺伝子の存在はこれらの遺伝子の変異とは排他的であることを明らかにした。また EML4-ALK 融合遺伝子群の臨床経過に付き詳細に報告した。 EML4-ALK 融合遺伝子が ALK キナーゼの過剰活性を介して癌化に深く関わっていることは既に知られており、新たな分子標的治療のターゲットとして期待されている。本論文により得られた知見は、ALK キナーゼ阻害剤を非小細胞肺癌症例に対して投与する際の患者選択にあたり有用な指標となりうる。 以上の研究は、EML4-ALK 融合遺伝子を有する非小細胞肺癌の臨床病理学的特徴の解明に貢献し新たな分子標的治療戦略に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものとみとめる。 なお、本学位授与申請者は、平成 21 年 12 月 25 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			