

機関番号：72602

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2010

課題番号：20390105

研究課題名（和文）肺癌細胞におけるキナーゼ遺伝子への依存と遺伝子変異による肺癌分類の可能性

研究課題名（英文）Lung cancer classification based on oncogene addiction

研究代表者

石川 雄一（ISHIKAWA YUICHI）

財団法人癌研究会・癌研究所病理部・部長

研究者番号：80222975

研究成果の概要（和文）：

我々は、自治医大間野博行研究室と共同で、癌遺伝子である ALK の転座（EML4-ALK 融合遺伝子）により発がんしていると考えられる肺癌 5 例（腺癌 4 例、扁平上皮癌 1 例）を報告した。その後、11 例の ALK 転座肺癌を見出した。非常に興味深いことに、いずれにも、EGFR 変異、ras 変異、c-met 異常を持つ症例がなかった。このことは、ALK 転座は、EGFR 変異、ras 変異、c-met 異常と相互に排他的であることを示しており、肺癌がキナーゼ系遺伝子の変異により相互に排他的な亜型に分類される可能性を示唆している。

研究成果の概要（英文）：

We reported 5 lung cancer cases with EML4-ALK translocation in collaboration with Prof. H. Manu, Jichi Medical College, followed by identifying further 6 such cases. Interestingly, all these tumors were adenocarcinoma and lacked oncogene mutations of EGFR, K-ras and c-Met. This findings clearly indicated that ALK translocation was mutually exclusive from EGFR, K-RAS and c-MET mutations and strongly suggest that lung adenocarcinoma can be classified by oncogene changes.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,700,000	810,000	3,510,000
2009年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2010年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
総計	6,600,000	1,980,000	8,580,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：人体病理学、診断病理学

キーワード：肺癌、遺伝子転座、キナーゼ、組織型、EML4-ALK 融合遺伝子、EGFR 変異

1. 研究開始当初の背景

我々は、自治医大間野博行研究室と共同で、癌遺伝子である ALK の転座（EML4-ALK 融合遺伝子）により発がんしていると考えられる肺癌 5 例（腺癌 4 例、扁平上皮癌 1 例）を報告した（Soda, Ishikawa, Mano et al. Nature 448:561-6, 2007）。

2. 研究の目的

本研究では、肺腺癌が、相互に排他的ながん遺伝子の変化によって分類できる可能性について検討する。

3. 研究の方法

過去に切除された 363 例の肺癌を含む 655 例の固形腫瘍の新鮮凍結材料を用いて、すべ

での可能な in-frame fusion を検出できるプライマーを設計して multiplex RT-PCR を施行した (Takeuchi et al. Clin Cancer Res 2008;14:6618-)。また、キメラタンパクの検出には、当部の竹内研究員らが開発した、ALK 肺癌に最適の高感度検出系である iAEP 法を使用した (Takeuchi et al. Clin Cancer Res 2009;15:3143-)。

4. 研究成果

肺の腺癌において 11 例の ALK 転座肺癌を見出した (11/253)。非常に興味深いことに、いずれにも、EGFR 変異、ras 変異、c-met 異常を持つ症例がなかった。このことは、ALK 転座は、EGFR 変異、ras 変異、c-met 異常と相互に排他的であることを示しており、肺癌がキナーゼ系遺伝子の変異により相互に排他的な亜型に分類される可能性を示唆している。

11 例の variant を内訳は以下の通りである。

Variant 1	3
Variant 2	3
Variant 3	3
Variant 4	1
Variant 5	1

この分布は、ethnicity 等によって変わる可能性があり、腺癌の民族毎の差異という観点からも興味深い。

腺癌以外の肺癌 110 例では ALK 融合遺伝子肺癌は 1 例も無かった (0/111)。組織型別では、腺扁平上皮癌 (0/7)、扁平上皮癌 (0/72)、大細胞癌 (0/7)、多形癌 (0/2)、小細胞癌 (0/22) であった。

組織病理学的には、腺癌の亜型で分類すると、腺房腺癌の比率が有意に高く (ALK 融合遺伝子肺癌では 6/11、融合遺伝子なしの群では 2/242) で、また粘液酸生成の腺癌が特徴的であった。

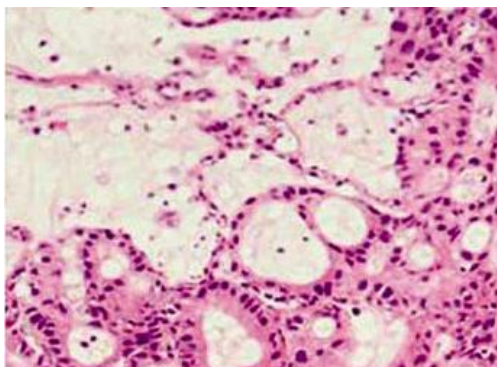


図. ALK 融合遺伝子肺癌の組織像。腺房形成と粘液産生が特徴的である。

肺癌では、p53 がん抑制遺伝子変異が高いことが知られているが、ALK 融合遺伝子肺癌では、その頻度が低く (1/11)、それも codon 273 の G/A transition (GTG-ATG) (V-M) であり、喫煙と無関係とされる、所謂「中性変異」であった。

また、ALK 肺癌では喫煙指数 400 未満の非喫煙者、軽度喫煙者が多く (10/11)、重度喫煙者は 1 例のみであり、喫煙者に多い KRAS 変異肺癌とは疫学的背景が異なることが示された。

肺以外の 10 臓器 (乳腺、腎臓、大腸、前立腺、尿路上皮、胃、子宮頸部、肝、脾、軟部 (MFH)) でも、ALK 融合遺伝子は 1 例も無かった (0/292)。

今後は、ALK 融合遺伝子肺癌を含めて、EGFR 変異肺癌、KRAS 変異肺癌など、各腺癌の亜型において、ゲノムの変化、細胞増殖パスウェイの種類によって分類することを試みたい。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 46 件)

Fujiwara T, Hiramatsu M, Isagawa T, Ninomiya H, Inamura K, Ishikawa S, Ushijima M, Matsuura M, Jones HM, Shimane M, Nomura H, Ishikawa Y, Aburatani Y. ASCL1-coexpression profiling but not single gene expression profiling defines lung adenocarcinomas of neuroendocrine nature with poor prognosis. Lung Cancer 2011, in press.

Sakao Y, Okumura S, Mun M-y, Uehara H, Ishikawa Y, Nakagawa K. The impact of superior mediastinal lymph node metastases on prognosis in non-small cell lung cancer located in the right middle lobe. J Thorac Oncol 2011 Mar;6(3):494-9.

Takeuchi K, Soda M, Togashi Y, Sugawara E, Hatano S, Asaka R, Okumura S, Nakagawa K, Mano H, Ishikawa Y. Pulmonary inflammatory myofibroblastic tumor expressing a novel fusion, PPF1B1-ALK: reappraisal of anti-ALK immunohistochemistry as a tool for novel ALK-fusion identification. Clin Cancer Res. 2011 May 15;17(10):3341-8.

Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, Nicholson AG, Geisinger KR, Yatabe Y, Beer DG, Powell CA, Riely GJ, Van Schil PE, Garg K, Austin JH, Asamura H, Rusch

VW, Hirsch FR, Scagliotti G, Mitsudomi T, Huber RM, Ishikawa Y, Jett J, Sanchez-Cespedes M, Sculier JP, Takahashi T, Tsuboi M, Vansteenkiste J, Wistuba I, Yang PC, Aberle D, Brambilla C, Flieder D, Franklin W, Gazdar A, Gould M, Hasleton P, Henderson D, Johnson B, Johnson D, Kerr K, Kuriyama K, Lee JS, Miller VA, Petersen I, Roggli V, Rosell R, Saijo N, Thunnissen E, Tsao M, Yankelewitz D. International association for the study of lung cancer/american thoracic society/european respiratory society international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol*. 2011 Feb;6(2):244-85.

Kudo K, Ohyanagi F, Horiike A, Miyauchi E, Yanagitani N, Hoshi R, Satoh Y, Motoi N, Hamanaka W, Ishikawa Y, Mun M, Sakao Y, Okumura S, Nakagawa K, Horai T, Nishio M. Clinicopathological findings of non-small-cell lung cancer with high serum progastrin-releasing peptide concentrations. *Lung Cancer*. 2011 Apr 27. [Epub ahead of print]

宮内栄作, 工藤慶太, 星利良, 古田則行, 平井康夫, 元井紀子, 石川雄一, 宝来威. 肺野に孤立性陰影を認めた悪性胸膜中皮腫の1例. *日本臨床細胞学会雑誌*, 50(2): 115-9, 2011.

稲村健太郎, 元井紀子, 石川雄一. トランスクリプトームによる病態解析. 第3部 病理組織検体を用いたオーム研究: 疾患関連分子同定への挑戦. *病理と臨床* 29: 臨時増刊号 522-528, 2011

Kodaira M, Takahashi S, Yamada S, Ueda K, Mishima Y, Takeuchi K, Yamamoto N, Ishikawa Y, Yokoyama M, Saotome T, Terui Y, Hatake K. Bone metastasis and poor performance status are prognostic factors for survival of carcinoma of unknown primary site in patients treated with systematic chemotherapy. *Ann Oncol*. 2010 Jun;21(6):1163-7. Epub 2009 Dec 17.

Migita T, Narita T, Asaka R, Miyagi E, Nagano H, Nomura K, Matsuura M, Satoh Y, Okumura S, Nakagawa K, Seimiya H, Ishikawa Y. Role of insulin-like growth factor binding proteins 2 in lung cancer: IGF independent anti-apoptotic effect via caspase-3. *Am J Pathol*, 176: 1756-66, 2010.

Hiramatsu M, Ninomiya H, Inamura K, Nomura K, Takeuchi K, Satoh Y, Okumura S, Nakagawa K, Yamori T, Matsuura M, Morikawa T, Ishikawa Y. Activation status of receptor tyrosine kinase downstream pathways in primary lung adenocarcinoma with reference of KRAS and EGFR mutations. *Lung Cancer* 2010, 70: 94-102.

Inamura K, Ninomiya H, Ishikawa Y, Matsubara O. Is the epidermal growth factor receptor status in lung cancers reflected in clinicopathologic features? *Arch Pathol Lab Med*. 2010 Jan;134(1): 66-72.

Satoh Y, Ishikawa Y. Primary pulmonary meningioma: Ten-year follow-up findings for a multiple case, implying a benign biological nature. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2010 Mar;139(3): e39-40.

Hoshi R, Furuta N, Horai T, Ishikawa Y, Miyata S, Satoh Y. Discriminant model for cytologic distinction of large cell neuroendocrine carcinoma from small cell carcinoma of the lung. *J Thorac Oncol*. 2010 (4); 5: 472-8

Hoshi R, Furuta N, Horai T, Takeuchi K, Ishikawa Y, Satoh Y. Implications for differential diagnosis of lung cancer-associated lymphadenopathy in lymphoepithelioid cell lymphoma (Lennert's lymphoma) arising simultaneously with lung cancer: a case report. *Acta Cytol*. 2010 Mar-Apr;54(2):197-201.

Fujino T, Nomura K, Ishikawa Y, Makino H, Umezawa A, Aburatani H, Nagasaki K, Nakamura T. Function of EWS-POU5F1 in sarcomagenesis and tumor cell maintenance. *Am J Pathol*. 2010 Apr; 176(4):1973-82.

Inamura K, Ishikawa Y. Lung cancer progression and metastasis from the prognostic point of view. *Clin Exp Metastasis*. (2010) 27:389-97

Sakao Y, Okumura S, Mun M, Uehara H, Ishikawa Y, Nakagawa K. Prognostic heterogeneity in multilevel N2 non-small cell lung cancer patients: importance of lymphadenopathy and occult intrapulmonary metastases. *Ann Thorac Surg*. 2010 Apr;89(4):1060-3.

Okada A, Shimmyo T, Hashimoto T, Kobayashi Y, Miyagi Y, Ishikawa Y, Nakagawa K, Hayashi J, Tsuchiya E. Predictive advantage of a cell type classification for pulmonary adenocarcinoma coupled with data for p53, K-ras and EGFR alterations. *Cancer Sci*. 2010 Jul; 101(7):1745-53. Epub 2010 Apr 7.

Mochizuki T, Okumura S, Ishii G, Ishikawa Y, Hayashi R, Kawabata K, Yoshida J. Surgical resection for oral tongue cancer pulmonary metastases. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2010 Jul;11(1):56-9. Epub 2010 Mar 31.

Yanai H, Nakamura K, Hijioka S, Kamei A, Ikari T, Ishikawa Y, Shinozaki E, Mizunuma N, Hatake K, Miyajima A. Dlk-1, a cell surface antigen on foetal hepatic stem/progenitor cells, is expressed in hepatocellular, colon, pancreas and breast carcinomas at a high frequency. *J Biochem*. 2010 Jul;148(1):85-92. Epub 2010 Mar 30.

Ohba T, Motoi N, Kimura Y, Okumura S, Kawabata K, Yoshizawa Y, Inase N, Ishikawa Y. Cytokeratin expression profiling is useful for distinguishing between primary squamous cell carcinoma of the lung and pulmonary metastases from tongue cancer. *Pathol Int*. 2010 Aug; 60(8):575-80.

Dan S, Okamura M, Seki M, Yamazaki K, Sugita H, Okui M, Mukai Y, Nishimura H, Asaka R, Nomura K, Ishikawa Y, Yamori T. Correlating phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor efficacy with signaling pathway status: in silico and biological evaluations. *Cancer Res*. 2010 Jun 15;70(12):4982-94. Epub 2010 Jun 8.

Yamamoto S, Kawakami S, Yonese J, Fujii Y, Tsukamoto T, Okubo Y, Kijima T, Ishikawa Y, Fukui I. Feasibility of antegrade radical prostatectomy for clinically locally advanced prostate cancer: a comparative study with clinically localized disease. *Int J Urol*. 2010, 17(8):720-5

Uehara H, Sakao Y, Mun M, Nakagawa K, Nishio M, Ishikawa Y, Okumura S. Prognostic value and significance of

subcarinal and superior mediastinal lymph node metastasis in lower lobe tumours. *Eur J Cardiothorac Surg*. 38 (2010) 498-502

Okamoto S, Machinami R, Tanizawa T, Matsumoto S, Lee GH, Ishikawa Y. Dedifferentiated liposarcoma with rhabdomyoblastic differentiation in an 8-year-old girl. *Pathol Res Pract*. 2010;206(3):191-196.

Takeuchi S, Takahashi A, Motoi N, Yoshimoto S, Tajima T, Yamakoshi K, Hirao A, Yanagi S, Fukami K, Ishikawa Y, Sone S, Hara E, Ohtani N. Intrinsic co-operation between p16INK4a and p21Waf1/Cip1 in the onset of cellular senescence and tumor suppression in vivo. *Cancer Res*. 2010 Nov 15;70(22):9381-90.

Choi YL, Soda M, Yamashita Y, Ueno T, Takashima J, Nakajima T, Yatabe Y, Takeuchi K, Hamada T, Haruta H, Ishikawa Y, Kimura H, Mitsudomi T, Tanio Y, Mano H. ALK Lung Cancer Study Group. EML4-ALK mutations in lung cancer that confer resistance to ALK inhibitors. *N Engl J Med*. 2010 Oct 28;363(18):1734-9.

Nishimori H, Takahashi S, Kiura K, Ennishi D, Kobayashi T, Sano K, Shinozaki E, Yokoyama M, Mishima Y, Terui Y, Chin K, Mizunuma N, Ito Y, Nishimura S, Takeuchi K, Ishikawa Y, Oguchi M, Tanimoto M, Hatake K. Cancer of unknown primary site: a review of 28 cases and the efficacy of cisplatin/docetaxel therapy at a single institute in Japan. *Acta Med Okayama*. 2010 Oct;64(5):285-91.

鈴木奈緒子, 星利良, 佐藤之俊, 古田則行, 宮内栄作, 石川雄一, 平井康夫, 宝来威. ラブドイド細胞が目立った肺大細胞神経内分癌の1例. *日本臨床細胞学会雑誌*, 49:15-19, 2010.

石川雄一. 肺がんの分類 - 癌遺伝子による分類の可能性. *喫煙科学*, 24(4): 4, 2010.

大場岳彦, 石川雄一. 肺神経内分癌腫瘍の分類と組織診断. *病理と臨床*, 28(2) : 151-155, 2010.

二宮浩範, 石川雄一. 微小乳頭状腺癌・腸型腺癌. *病理と臨床*, 28(3) : 259-262, 2010.

荻田 真, 石川雄一. 神経内分泌形態, 第3章肺-腫瘍-, 『病理形態学キーワード』, 臨時増刊号, 病理と臨床 vol. 28, 2010、文光堂

石川雄一. ALK 肺癌の臨床病理学的特徴 - 形態からわかるその疫学的背景. 呼吸器内科 18 (4): 362-367, 2010

田中寿志, 工藤慶太, 文 敏景, 元井紀子, 石川雄一, 宝来 威. 検診を契機に診断した気管支顆粒細胞腫の 1 例. 日呼吸会誌, 49(2): 128-130, 2011

Komai Y, Fujiwara M, Fujii Y, Mukai H, Yonese J, Kawakami S, Yamamoto S, Migita T, Ishikawa Y, Kurata M, Nakamura T, Fukui I. Adult Xp11 translocation renal cell carcinoma diagnosed by cytogenetics and immunohistochemistry. Clin Cancer Res, 15(4):1170-6, 2009

Ninomiya H, Hiramatsu M, Inamura K, Nomura K, Okui M, Miyoshi T, Okumura S, Satoh Y, Nakagawa K, Nishio M, Horai T, Miyata S, Tsuchiya E, Fukayama M, Ishikawa Y. Correlation between morphology and EGFR mutations in lung adenocarcinomas. Significance of the micropapillary pattern and the hobnail cell type. Lung Cancer 63(2):235-40, 2009.

Takeuchi K, Choi YL, Togashi Y, Soda M, Hatano S, Inamura K, Takada S, Ueno T, Yamashita Y, Satoh Y, Okumura S, Nakagawa K, Ishikawa Y, Mano H. KIF5B-ALK, a novel fusion oncokininase identified by an immunohistochemistry-based diagnostic system for ALK-positive lung cancer. Clin Cancer Res, 15(9):3143-9, 2009.

Inamura K, Takeuchi K, Togashi Y, Hatano S, Ninomiya H, Motoi N, Mun MY, Sakao Y, Okumura S, Nakagawa K, Soda M, Lim Choi Y, Mano H, Ishikawa Y. EML4-ALK lung cancers are characterized by rare other mutations, a TTF-1 cell lineage, an acinar histology, and young onset. Mod Pathol. 22: 508-515, 2009

Kato M, Sanada M, Kato I, Sato Y, Takita J, Takeuchi K, Niwa A, Chen Y, Nakazaki K, Nomoto J, Asakura Y, Muto S, Tamura A, Iio M, Akatsuka Y, Hayashi Y, Mori H, Igarashi T, Kurokawa M, Chiba S, Mori S, Ishikawa Y, Okamoto K, Tobinai K,

Nakagama H, Nakahata T, Yoshino T, Kobayashi Y, Ogawa S. Frequent inactivation of A20 in B-cell lymphomas. Nature 459: 712-6, 2009.

Yamamoto S, Kawakami S, Yonese J, Fujii Y, Tsukamoto T, Ohkubo Y, Komai Y, Ishikawa Y, Fukui I. Risk stratification of high-grade prostate cancer treated with antegrade radical prostatectomy with intended wide resection. Jpn J Clin Oncol 39(6):387-93, 2009.

Nakamura Y, Migita M, Hosoda F, Okada N, Gotoh M, Arai Y, Fukushima M, Ohki M, Miyata S, Takeuchi K, Imoto I, Katai H, Yamaguchi T, Inazawa J, Hirohashi S, Ishikawa Y, Shibata T. Krüppel-like factor 12 plays a significant role in poorly differentiated gastric cancer progression. Int J Cancer 125:1859-67, 2009

Makino H, Toyoda M, Matsumoto K, Saito H, Nishino K, Fukawatase Y, Machida M, Akutsu H, Uyama T, Miyagawa Y, Okita H, Kiyokawa N, Fujino T, Ishikawa Y, Nakamura T, Umezawa A. Mesenchymal to embryonic incomplete transition of human cells by chimeric OCT4/3 (POU5F1) with physiological co-activator EWS. Exp Cell Res. 315(16): 2727-40, 2009

Satoh Y, Hoshi R, Horai T, Okumura S, Nakagawa K, Ishikawa Y, Miyata S. Association of cytologic micropapillary clusters in cytology samples with lymphatic spread in clinical stage I lung adenocarcinomas. Lung Cancer 2009 Jun;64(3):277-81

Hanyu A, Kojima K, Hatake K, Nomura K, Murayama H, Ishikawa Y, Miyata S, Ushijima M, Matsuura M, Ogata E, Miyazawa K, Imamura T. Functional in vivo optical imaging of tumor angiogenesis, growth, and metastasis prevented by administration of anti-human VEGF antibody in xenograft model of human fibrosarcoma HT1080 cells. Cancer Sci. 2009;100:2085-92

中村裕, 石川雄一. 肺の神経内分泌性腫瘍の病理学, 特に大細胞神経内分泌癌について. 呼吸 28:33-6, 2009.

[学会発表] (計2件)

Ishikawa Y. New aspects of pathological diagnosis and classification of cancer: focusing on miRNA expression and signaling pathways. Symposium 5 “Advancement of cancer pathology diagnosis and its future development” Jpn Cancer Assoc 69th Annual Meeting 2010 Sept 22-24, Osaka.

石川雄一. 教育講演 III 肺癌「肺癌の病理診断における最近のトピック」日本臨床細胞学会関東連合学術集会, 軽井沢, 2010年9月18日.

[図書] (計1件)

荻田 真, 石川雄一 (分担執筆) 病理形態学キーワード (第3章 肺・腫瘍) 「神経内分泌形態」(pp. 48-49), pp. 1-446, 文光堂、2010.

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石川 雄一 (YUICHI ISHIKAWA)
(財) 癌研究会・癌研究所病理部・部長
研究者番号: 80222975

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし