

## 小細胞肺癌における ALK 遺伝子解析に関する研究

愛知県がんセンター中央病院  
遺伝子病理診断部  
部長 谷田部 恭

愛知県がんセンター中央病院  
遺伝子病理診断部  
レジデント 近藤 千晶

### 背景と目的

ALK は未分化大細胞型リンパ腫 (anaplastic large cell lymphoma) において同定された遺伝子であり、その名前の由来になっている。リンパ腫では NPM-ALK 転座がそのリンパ腫の発症と関連していたが、2007 年に曾田、間野らがこの ALK が肺癌において EML4 と融合遺伝子を形成し、腫瘍化に深く関わっていることを報告した<sup>1</sup>。これまで転座のような染色体異常を示す固形腫瘍は極めて稀であるとされており、前立腺癌や唾液腺癌などの一部に例外的に存在するのみと考えられていたため、主要癌種である肺癌での存在は驚きをもって受け入れられた。その時点で、未分化大細胞型リンパ腫を標的として臨床第 1 相試験がすでに先行しており、この発見をもとに急遽 ALK 陽性肺癌にも広げられ、遺伝子変異同定後半年にもかかわらず肺癌 9 例が ALK 阻害剤で治療されていずれも良好な反応を示したことが報告された。それを引き継いだ第 II 相試験では 奏効率は 57%、投与後 8 週の病勢制御率は 87%であった<sup>2</sup>。このような良好な結果により第 3 相試験の結果を待たずして、保険承認されるに至っている。

このように、ALK 遺伝子再構成変異陽性の非小細胞肺がんは ALK 阻害薬投与で良好な治療成績を得られているため、ALK 陽性肺癌の同定が問題となる。その診断法には免疫染色、FISH、RT-PCR が用いられ、簡便性とコストの面から免疫染色をスクリーニングとし、FISH 法にて確認することが推奨されている<sup>3,4</sup>。しかし肺小細胞がんのごく一部でも ALK 免疫染色が陽性となることが知られており、今回 ALK 免疫染色陽性肺小細胞肺がんの臨床病理学

的特徴、臨床的意義につきレトロスペクティブに検討を行った。

## 対象と方法

当院で小細胞肺がんと診断された67例を対象として抗ALKモノクローナル抗体（5A4）を用いてFLEX法でALK免疫染色を用いて検討した。また、これらの発現が遺伝子変化と相関があるか、FISH法もしくはRT-PCR法にて確認した。さらに小細胞肺癌株を用いて、ALK発現におけるALK阻害剤（crizotinib）の効果をMTTアッセイにて検討した。

## 結果

患者背景は次のとおりである：男性63例女性4例、年齢中央値68歳（35歳-85歳）、喫煙者66例非喫煙者1例、組織型は小細胞肺がん53例混合型小細胞肺がん14例、病期はIA期1例IB期2例IIA期1例IIB期2例IIIA期19例IIIB期16例IV期23例。LD40例ED24例。画像上末梢型50例 中枢型17例であった。

ALK免疫染色陽性例は9例（13.4%）であった（写真1）。これらの症例におけるALK遺伝子再構成は認められず、正常ALKタンパクの発現と考えられた。臨床的には、ALK免疫染色陽性例は全例末梢型であった。初回治療は放射線化学療法29例抗がん剤単独治療が29例、手術例2例で4例は診断のみであった。化学放射線療法の奏効率は全症例、陽性例、陰性例とも100% 全症例の化学療法単独の奏効率59.1%でALK免疫染色陽性例（66.7%）、陰性例（57.6%）で奏効率に有意差はなかった。

肺癌細胞株H2228、A549、ASLC7、Darby、SKLC2を用いてALK発現を検討した結果、AKLC2では弱いながらもALK発現が認められたが、遺伝子再構成は認められず、臨床的に認められた小細胞癌の特徴と一致していると考えられた。そこで、ALK再構成陽性腺癌株であるH2228、ALK陰性細胞株A549、ALK陽性遺伝子再構成陰性小細胞癌株SKLC2を用いてMTTアッセイを行った。Crizotinibの効果は、高濃度の暴露においてはSKLC2は、H2228とA549の間の値を取ることが示されたが（図2）、臨床的に到達不可能な濃度であり、臨床的な効果は期待できないと考えられた。

## 結語

小細胞肺がんでのALK免疫染色陽性率は13%であった。検討症例は少数であるがALK免疫染色陽性肺小細胞がんでは末梢型が多くみられ、治療に対する反応性に関しては有意な差がないと考えられた。また、これら遺伝子再構成を持たないALK発現小細胞癌にはALK阻害剤の効果は期待できないことが推定された。

文献

1. Soda M, Choi YL, Enomoto M, et al. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature* 2007;448:561-566.
2. Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR, et al. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2010;363:1693-1703.
3. 日本肺癌学会バイオマーカー委員会. ALK 遺伝子検査の手引き. Available at <http://www.haigan.gr.jp/modules/bulletin/index.php?page=article&storyid=41>.
4. Murakami Y, Mitsudomi T, Yatabe Y. A Screening Method for the ALK Fusion Gene in NSCLC. *Front Oncol* 2012;2:24.

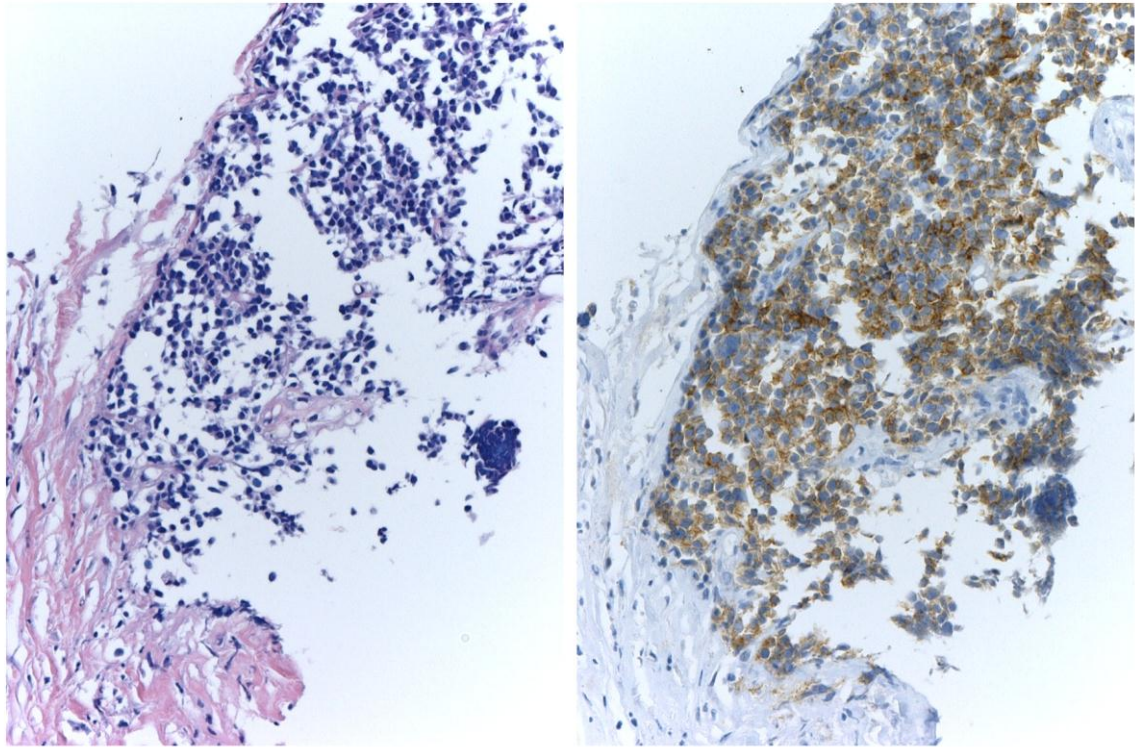


図1 ALKタンパク発現陽性肺小細胞癌の一例。強いALK発現が腫瘍細胞に観察される（右）。この腫瘍に対するFISH法ではALK再構成は認められなかった。

④④⑦④④④

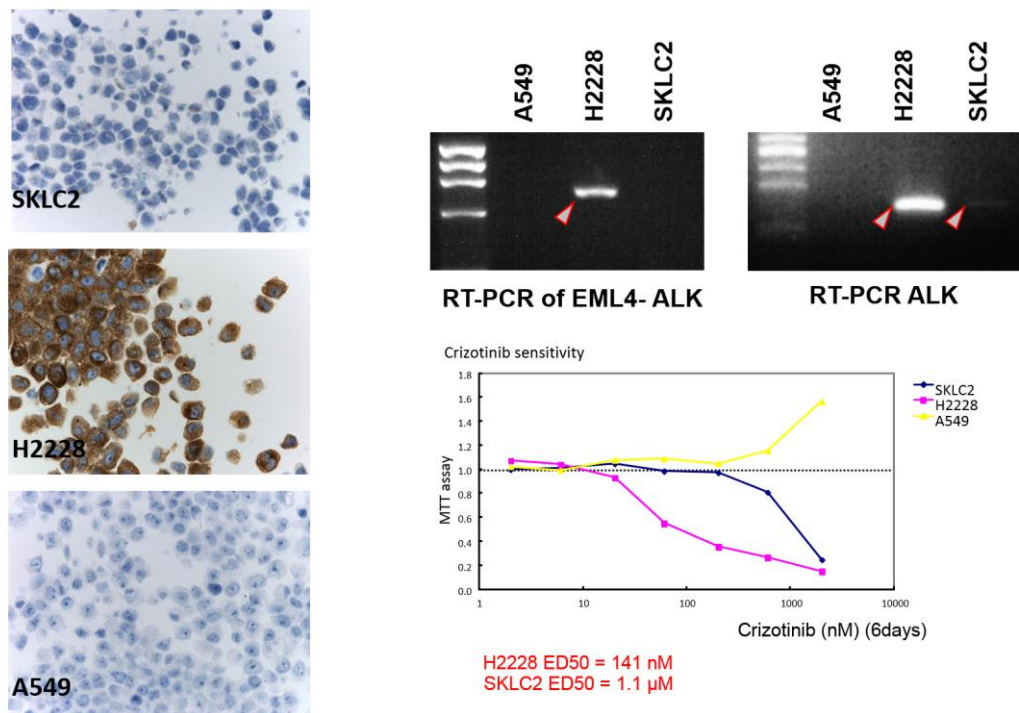


図2 肺癌細胞株を用いたMTTアッセイによるALKタンパク発現陽性肺小細胞癌に対するALK阻害剤の効果。ALK発現を示すが遺伝子再構成のないSKLC2は、ともに陽性のH2238、ともに陰性のA549と、高濃度では中間的な細胞障害性を示す。しかしながら、血中到達濃度を超えており、臨床的には効果がないと考えられた。