



Työterveyslaitos

Arbetshälsoinstitutet
Finnish Institute of Occupational Health

Tietoa työstä

Tupakointiin ja asbestialtistukseen liittyvät diagnostiset ja hoidolliset biomarkkerit ei-pienisoluisissa keuhkosyövissä ja mesoteliomassa

LOPPURAPORTTI TYÖSUOJELURAHASTOLLE

**Sakari Knuutila
Henrik Wolff
Eeva Kettunen
Kirsti Husgafvel-Pursiainen**



Työterveyslaitos

LOPPURAPORTTI

TYÖSUOJELURAHASTOLLE
HELSINGIN YLIOPISTON JA TYÖTERVEYSLAITOKSEN
YHTEISHANKKEESTA (HANKE NRO 112268 JA 112269)

Sakari Knuutila, Henrik Wolff, Eeva Kettunen ja
Kirsi Husgafvel-Pursiainen

Työterveyslaitos
Helsinki 2015

Työterveyslaitos

Topeliuksenkatu 41 a A

00250 Helsinki

www.ttl.fi

Kansi: Mainostoimisto Albert Hall Finland Oy Ltd

© 2015 Työterveyslaitos ja kirjoittajat

Julkaisu on toteutettu Työsuojelurahaston tuella.

Tämän teoksen osittainenkin kopiointi on tekijänoikeuslain (404/61, siihen myöhemmin tehtyine muutoksineen) mukaisesti kielletty ilman asianmukaista lupaa.

ISBN 978-952-261-559-6 (nid.)

ISBN 978-952-261-560-2 (PDF)

Suomen Yliopistopaino Oy – Juvenes Print, Tampere, 2015

SISÄLTÖ

TIIVISTELMÄ	5
LÄHTÖKOHTA JA TAUSTA	7
TAVOITTEET, TULOKSIEN HYÖTY JA SOVELLETTAVUUS	8
POTILAAT JA MENETELMÄT	9
TULOKSET	11
HANKKEESSA VALMISTUNEET JULKAISUT: ARTIKKELIT, ESITELMÄT SEKÄ NIIDEN TEKIJÄT	14
REFERENSSIT / LÄHDELUETTELO	16
LOPPURAPORTTI TYÖTERVEYSLAITOKSEN HANKEOSUUDESTA.....	17
TIIVISTELMÄ	18
LÄHTÖKOHTA JA TAUSTA	20
TAVOITTEET, TULOKSIEN HYÖTY JA SOVELLETTAVUUS	21
POTILAAT JA MENETELMÄT	22
TULOKSET	23
TULOSTEN MERKITYS	22
HYÖDYNTÄMIS- JA JATKOTUTKIMUSTARPEET.....	24
YHTEISTYÖ JA SEN MERKITYS YHTEISHANKKEESSA	25
TULOSTEN JULKISTAMINEN	26
HANKKEESSA VALMISTUNEET JULKAISUT	26
REFERENSSIT / LÄHDELUETTELO	28

TIIVISTELMÄ

Tausta. Tupakoivien ja asbestialtistuneiden keuhkosityöpä- ja mesotelioomapotilaiden ennuste on erittäin huono (5 vuoden elonjäämisosuus noin 5 %). Molekulaarisilla biomarkkerilla on ennusteellinen ja hoidollinen merkitys keuhkosityövissä

Tavoitteet. Toisen sukupolven DNA-sekvensoinnilla – tavoitteemme oli luokitella ei-pienisoluiset keuhkosityövät ja mesotelioomat molekulaarisiin alaryhmiin ja selvittää alaryhmien vastaavuus ennusteeseen, hoitovasteeseen, tupakointiin ja asbestialtistukseen. Profiloinnilla pyrimme louhimaan biomarkkereita, joita voidaan hyödyntää arvioitaessa taudin etiologiaa (erityisesti asbestialtistusta) ja joita voidaan hyödyntää ennusteen ja hoitovasteen arvioinnissa (vaikutus hoidon valintaan).

Potilaat. Eri osatavoitteita varten käytiin läpi kaiken kaikkiaan 892 keuhkosityöpä- ja mesotelioomapotilaan sairaskertomukset. Niistä kerättiin kliiniset tiedot, annetut hoidot, ennustetiedot, tupakointi ja asbestialtistustiedot. Kliinisten ja altistetietojen pohjalta suoritettiin Työterveyslaitoksella asbestikuitumääritykset keuhkojen ei-syöpäisestä kohdasta 199 adenokarsinooma- ja mesotelioomapotilaasta.

Sekvensointimenetelmät ja tulosten varmentaminen. Menetelminä käytettiin eksomisekvensointia ja useita kohdistettuja uuden polven sekvensointimenetelminä. Tulokset varmistettiin useilla rinnakkaismenetelmillä kuten PCR:lää, fluoresenssi in situ hybridisaatiolla, ja immunohistokemialla.

Tulokset. Hankkeessa syntyi kahdeksan alkuperäisjulkaisua ja kaksi hankkeeseen liittyvää kansainvälisenä yhteistyönä syntyvää julkaisua. Hankkeessa voitiin ensimmäistä kertaa selvittää jo aiemmin tunnettujen hoidollisesti merkittävien aloitusmutaatioiden (EGFR, ALK, KRAS; BRAF) yleisyys suomalaisilla keuhkosityöpäpotilailla. Ephriinigeeniperheen mutaatiot osoittautuivat uutena havaintona yleisiksi ei-pienisoluisessa keuhkosityövissä. Viitteitä siitä, että mainitut aloitusmutaatiot liittyisivät asbestialtistuneeseen keuhkosityöpään, ei tullut. Sen sijaan laajalla eksomisekvensoinnilla löydettiin uusia mutaatioita, jotka aineistossamme liittyivät asbestialtistukseen. Löydöksemme varmentaminen muilla rinnakkaismenetelmillä on meneillään.

Johtopäätökset ja hankkeen hyödyt terveydenhuollolle ja tutkijaryhteisölle. Uuden polven sekvensointimenetelmät osoittautivat toimivaksi menetelmäksi käytetäessä formaliiniin fiksattua ja paraffiiniin valettua syöpäkudosmateriaalia. Muihin perinteisiin menetelmiin verrattuna menetelmä osoittautui luotettavaksi ja herkäksi ja antoi genomilaajuisesti uutta informaatiota mutaatioista. Keuhkosityövän kliinisesti merkittävien aloitusmutaatioiden yleisyyden kuvaaminen antaa pohjaa kohdistettu-

jen estäjähoitojen käytölle ja kehittämiselle. Kuvaamamme uudet asbestialitukseen liittyvät mutaatiot keuhkosyövässä ja mesoteliomassa ovat tärkeitä primaarihavain-toja, joiden varmentaminen laajemmilla potilasaineistolla on keskeinen jatkotutki-muksen aihe. Hankkeella on ollut huomattava merkitys kansallisen ja kansainvälisen tutkimuksen verkottumisen, uuden teknologian pystyttämisen, nuorten tutkijoiden kouluttamisen ja urakehityksen kannalta. Hankkeeseen suoraan tai epäsuorasti on valmistumassa kolme väitöskirjaa ja yhteistyö ja tutkijavierailut Veronan ja Barcelo-nan yliopistojen välillä on käynnistynyt ja/tai voimistunut.

LÄHTÖKOHTA JA TAUSTA

Keuhkosityöpä aiheuttaa kaikista syövästä eniten syöpäkuolemia maailmanlaajuisesti. Valtaosa keuhkosityövästä liittyy tupakointiin (n. 80–90 %) ja pieni osa asbestialtistukseen etenkin yhdessä tupakoinnin kanssa (2-5 %). Mesoteliooman keskeisin taustatekijä on puolestaan asbestialtistus.

Tupakoivien ja asbestialtistuneiden keuhkosityöpä- ja mesotelioomapotilaiden ennuste on erittäin huono (5 vuoden elonjäämisosuus noin 5 %). Tupakoimattomilla keuhkojen adenokarsinoomapotilailla on parempi ennuste kuin tupakoivilla potilailla [1]. Tupakoimattomilla potilailla molekulaarinen patogeneesi näyttää olevan erilainen kuin tupakoivilla [1]. Asbestialtistuneen keuhkosityövän erottamisella altistumattomien ryhmästä olisi huomattava merkitys työterveys- ja vakuutuslääketieteessä. Näin ollen tavoitteemme löytää biomarkkereita keuhkosityöpien patogeneesissa merkittävänasteisen asbestialtistuksen osoittamiseksi on mitä keskeisin.

Molekulaarisilla biomarkkerilla on ennusteellinen ja hoidollinen merkitys keuhkosityövässä. Erityisesti EGFR-mutaatiopositiivisilla potilailla on parempi ennuste kuin negatiivisilla ja nämä potilaat pääsääntöisesti respondoivat EGFR- inhibiittorihoitoon [1-3]. Hoitovastetta eivät saa kuitenkaan kaikki mutaatiopositiiviset potilaat ja hoidon teho väistyy ajan myötä jokaisella potilaalla.

Potilaiden molekulaarinen karakterisointi erilaisiin ennusteellisiin hoidollisiin ryhmiin on avainasemassa hoitotulosten parantamiseksi. Tärkeää on löytää, ei ainoastaan tupakoimattomien ja asbestille altistumattomien potilaiden ryhmästä, vaan myös altistuneiden ryhmästä ennusteellisia molekulaarisia biomarkkereita. Molekulaarisen profiloinnin avulla saattaisi löytyä nykyään hoitorefraktaareista tupakoivista ja asbestialtistuneista alaryhmiä, jotka hyötyisivät kohdistetusta hoidosta. Niin ikään tärkeää olisi löytää tupakoimattomien ryhmästä ne potilaat, jotka eivät hyödy nykyisistä inhibiittorihoidoista.

TAVOITTEET, TULOKSIEN HYÖTY JA SOVELLETTAVUUS

Toisen sukupolven DNA-sekvensoinnilla ja mikroRNA -profiloinnilla tavoittemme oli luokitella ei-pienisoluiset keuhkosityövät ja mesotelioomat molekulaarisiin alaryhmiin ja selvittää alaryhmien vastaavuus ennusteeseen, hoitovasteeseen, tupakointiin ja asbestialtistukseen. Profiloinnilla louhimme biomarkkereita, joita voidaan hyödyntää arvioitaessa taudin etiologiaa (erityisesti asbestialtistusta) ja joita voidaan hyödyntää ennusteen ja hoitovasteen arvioinnissa (vaikutus hoidon valintaan).

Löydettävien geenimuutosten (biomarkkereitten) avulla pyrkimyksemme oli ensiksi arvioida onko jo olemassa valmiita muutokseen kohdistuvia inhibiittori- tai aktivoivia molekyylejä muutoksen korjaamiseen potilashoidossa. Hypotesimme oli, että löydämme toistuvia mutaatioita solun kasvua ja kuolemaa säätelevissä tyrosiinikinaasi (TK) -geeneissä tai geenien ilmenemiseen liittyviä transkriptiofaktoreita koodaavissa geeneissä. Jo nyt on tunnettu suuri määrä TK-mutaatioita, joihin on olemassa tai kehitteillä inhibiittori.

Profiloimalla tupakoivien, tupakoimattomien ja asbestialtistuneiden potilaiden genomimuutoksia, avautui mahdollisuus erottaa asbestialtistuneen syövän tyyppipoikkeavuudet tupakan aiheuttamista. Koska asbestialtistuneet potilaat useimmiten ovat myös tupakoivia, on asbestin altistuksen aiheuttamien muutosten ominaispiirteiden tunnistaminen usein vaikeaa sellaisenaan, ilman tupakan aiheuttamien muutosten kirjoa. Siksi aineistomme koostui myös pelkästään tupakoivista potilaista.

POTILAAT JA MENETELMÄT

Työvaiheet eri osatavoitteissa:

Eri osatavoitteita varten käytiin läpi kaiken kaikkiaan 892 keuhkosyöpä- ja mesotelioomapotilaan sairaskertomukset. Niistä kerättiin kliiniset tiedot, annetut hoidot, enustetiedot, tupakointi ja asbestialtistustiedot. Osaprojektien potilasaineistot ja työvaiheet on kuvattu alla.

- **Toistuvat mutaatiot ei-pienisoluisessa keuhkosyövässä suomalaisilla potilailla – julkaisu (1).**

Tässä työssä selvitimme toistuvimpia, syöpään liittyviä ja todennäköisesti haitallisia mutaatioita suomalaisilla ei-pienisoluisilla keuhkosyöpäpotilailla. Materiaalina oli yhteensä 81 potilaan tuumorinäytteitä. Menetelminä käytettiin uuden sukupolven sekvensointia ja lisäksi kapillaarisekvensointia tulosten varmentamisessa. Sekvensointimenetelmänä käytettiin Agilentin SureSelect-systeemiä. Validointivaiheessa käytettiin kapillaarisekvensointia.

- **Uuden polven sekvensoinnin ja PCR-menetelmän vertailu ei-pienisoluisessa keuhkosyövässä suomalaisilla potilailla – julkaisu (2).**

Tässä työssä selvitettiin uuden polven sekvensoinnin soveltuvuus aloitusmutaatioiden tutkimisessa parafinileikemateriaalista vertaamalla 81 potilaan tuloksia vakiintuneeseen PCR-menetelmään. Uuden polven sekvensointimenetelmänä käytettiin Agilentin SureSelect-systeemiä.

- **EGFR-aloitusmutaatiot ei-pienisoluisessa keuhkosyövässä suomalaisilla potilailla – julkaisu (3).**

Tässä työssä tutkittiin EGFR-geenin kliinisesti merkittävien aloitusmutaatioiden esiintymisestä suomalaisilla 526 ei-pienisoluisen keuhkosyöpäpotilaan aineistosta. Tulokset saatiin 510 potilaalta. Menetelmänä käytettiin PCR-perusteisia mutaatiotestejä.

- **Neljän menetelmän vertailu ALK-fuusioiden osoittamisessa ei-pienisoluisessa keuhkosyövässä suomalaisilla potilailla – julkaisu (4).**

Tässä työssä tutkittiin 87 ei-pienisoluisen keuhkosyöpäpotilaan ALK-fuusioiden fluoresenssi in situ hybridisaatiolla (FISH), RT-PCR:lla, immunohistokemialla ja uuden polven sekvensoinnilla (Agilentin SureSelect).

- **ALK-fuusioiden frekvenssi ei-pienisoluisessa keuhkosyövässä suomalaisilla potilailla – julkaisu (5).**

Tässä työssä tutkittiin immunohistokemiallista menetelmää käyttäen ALKfuusi-
ospesifistä vasta-ainetta fuusion yleisyys suomalaisessa potilasaineistossa. Osa
löydöksistä varmistettiin uuden polven sekvensoinnilla (Ion Torrent-systeemi) ja
FISH:lla.

- **Ion Torrent -uuden polven sekvensointimenetelmän soveltaminen para-
fiinileikemateriaalille ja aloitusmutaatioiden frekvenssin selvittäminen
eipienisoluisessa keuhkosyövässä suomalaisilla potilailla (käsikirjoitus
tekeillä).**

Tässä työssä tutkittiin käyttäen Ion Torrentin keuhko- ja suolistosyöpä -paneelin
sisältämien aloitusmutaatioiden (50 geeniä, 2850 mutaatiota) yleisyys 566 eipie-
nisoluisen keuhkosyöpäpotilaan aineistossa.

- **Aloitusmutaatiot keuhkokarsinoidituumoreissa (6).**

Tässä työssä selvitettiin Ion Torrentin keuhko- ja suolistosyöpä -paneelin sisältä-
mien aloitusmutaatioiden esiintyvyyttä 26 keuhkokarsinoidipotilaalla.

- **Asbestialtistuneeseen keuhkojen adenokarsinoomaan ja mesoteli-
oomaan liittyvät mutaatiot (käsikirjoitus tekeillä).**

Kliinisten ja altistetietojen pohjalta suoritettiin Työterveyslaitoksella asbesti-
kuitumääritykset keuhkojen ei-syöpäisestä kohdasta 199 adenokarsinooma- ja
mesotelioomapotilaasta. Asbestialtistus perustui kuitumääritystuloksiin ja aden-
okarsinoomassa rajana altistuneelle oli $>2.0 \times 10^{-6}/g$ ja mesotelioomassa $>$
 $1.0 \times 10^{-6}/g$. Altistumattoman adenokarsinooman raja oli $< 1.0 \times 10^{-6}/g$ ja
mesotelioomassa $<0.2 \times 10^{-6}/g$.

Eksomisekvensointi suoritettiin seuraaville testiryhmille:

ei-tupakoivat, ei-asbestialtistuneet adenokarsinoomapotilaat: 1

tupakoivat, ei-asbestialtistuneet adenokarsinoomapotilaat: 16

tupakoivat, asbestialtistuneet adenokarsinoomapotilaat: 9

asbestialtistuneet mesotelioomapotilaat: 18

ei-asbestialtistuneet mesotelioomapotilaat: 3

Menetelmänä käytettiin eksomisekvensointia (Roche Nimblegen) ja materiaalina
tuumorinäytteitä 26 adenokarsinooma ja 21 mesoteliooma-potilaalta. Mutaatioi-
den validointi PCR-menetelmällä on analysointivaiheessa.

TULOKSET

Hankkeen tulokset eri osaprojekteissa olivat seuraavat:

- **Toistuvat mutaatiot ei-pienisoluisessa keuhkosyövässä suomalaisilla potilailla – julkaisu (1).**

81 potilasta tutkittiin. Efriinireseptori-geenit osoittautuivat toistuvasti mutatoituneeksi geeniryhmäksi, yhteensä 20% potilaista kantoi vähintään yhtä mutaatiota joistakin näistä geeneistä. Useat niistä ennustettiin in silico-menetelmien avulla todennäköisesti haitallisiksi ja esiintyivät geenitoiminnan kannalta merkityksellisillä alueilla. Valtaosan potilasmateriaalista oli tupakoitsijoilta, minkä vuoksi emme pystyneet tilastollisesti osoittamaan mutaatioiden liittyvän tupakointihistoriaan, mutta valtaosa mutaatioista esiintyi tupakoitsijoilla. Lisäksi nämä mutaatiot esiintyivät useasti yhdessä muiden, erityisesti EGFR ja KRAS-mutaatioiden, kanssa. Aineiston pienuudesta johtuen onko asbestialtistuksella syy-yhteyttä efriini-geenimutaatioihin.

- **Uuden polven sekvensoinnin ja PCR-menetelmän vertailu ei-pienisoluisessa keuhkosyövässä suomalaisilla potilailla – julkaisu (2).**

Kun 81 potilasta tutkittiin, uuden polven sekvensointi ja PCR-menetelmä antoivat lähes 100 prosenttisesti saman tuloksen. Muutamassa ristiriitaisessa tuloksessa käyttämämme kolmas menetelmä (suora sekvensointi) viittasi uuden polven sekvensointituloksen olevan oikean. Yhteenvetona tutkimuksestamme voidaan todeta uuden polven sekvensoinnin olevan ylivertainen, koska se ei ainoastaan osoittanut perinteisellä menetelmällä löydetyt mutaatiot vaan uusia mutaatioita, joita ei perinteisillä menetelmillä ollut tutkittavissa. Tässä työssä ja muissa EGFR-mutaatioita selvittävässä töissämme näyttäisi, ettei tähän keuhkosyövän alatyypin liity asbestialtistusta.

- **EGFR-aloitusmutaatiot ei-pienisoluisessa keuhkosyövässä suomalaisilla potilailla – julkaisu (3).**

Tässä osatyössä ensimmäistä kertaa osoitimme EGFR-mutaatioiden yleisyyden suomalaisilla potilailla. Tulokset saatiin 510 potilaalta. Mutaatioita esiintyi yhteensä 11% potilaista ja ne esiintyivät merkittävästi useammin naisilla ja ei-tupakoivilla. Tulokset olivat hyvin yhteneväisiä aiempiin tutkimuksiin, jotka oli tehty eurooppalaisilla potilailla. Tutkimme myös mutaatioiden esiintymisen potilailla,

joilla oli haastatteluun perustuva asbestialtistushistoria. Mutaatioita löytyi sekä asbestille altistumattomilta että altistuneilta potilailta, altistumattomilta useammin, mutta tilastollista merkitsevyyttä ei löydetty.

- **Neljän menetelmän vertailu ALK-fuusioiden osoittamisessa ei-pienisoluisessa keuhkosityövissä suomalaisilla potilailla – julkaisu (4).**

Menetelmävertailu osoitti, että kaikki käytetyt menetelmät antoivat saman tuloksen. Näin ollen merkittävää on, että uuden polven sekvensointia voidaan luotettavasti käyttää tämän fuusiogeenin osoittamiseen. Uuden polven sekvensoinnin merkittävä etu on, että voidaan samanaikaisesti todeta kliinisesti merkittävät aloitusmutaatiot kuten EGFR, KRAS, BRAF. ja ALK-variaatiomutaatiot. Tutkimillemme potilailla ei ollut osoitettavissa potilastietojen perusteella asbestialtistusta.

- **ALK-fuusioiden frekvenssi ei-pienisoluisessa keuhkosityövissä suomalaisilla potilailla – julkaisu (5).**

Osoitimme ensimmäistä kertaa ALK-fuusiofrekvenssin suomalaisilla potilailla. Se on 2.3% kaikista ei-pienisoluisista keuhkosityövistä ollen hieman alhaisempi kuin mitä muissa eurooppalaisissa aineistoissa. Tähänkään aloitusmutaatioon ei näyttäisi liittyvän asbestialtistusta.

Tulosten merkitys

1. Uuden polven sekvensointi osoittautui erittäin hyväksi menetelmäksi kliinisesti ja etiologisesti merkittävien mutaatioiden etsimisessä asbestialtistuneeseen keuhkosityöpään ja mesotelioomaan liittyen. Uusimmilla menetelmillä kuten Ion Torrent-pohjaisella systeemillä voidaan hyvinkin pienestä lähtömateriaalista osoittaa parafiinileikemateriaalista samanaikaisesti suuri määrä syöpien aloitusmutaatioita.
2. Tutkimustamme varten olemme keränneet laajan potilasaineiston, josta on kliinisten tietojen lisäksi tiedossa tupakan poltto ja asbestialtistus. Aineistoa voidaan jatkossa käyttää biomarkkereiden louhinnassa.
3. Olemme ensimmäistä kertaa selvittäneet keskeisimpien keuhkosityövän ja mesoteliooman aloitusmutaatioiden yleisyyden suomalaisilla potilailla.
4. Olemme uusien asbestialtistukseen liittyvien biomarkkereiden jäljillä. Jatkotutkimuksia kuitenkin tarvitaan löydöstemme vahvistamiseksi suuremmalla potilasaineistolla.

Kehittämisideat

1. Uuden polven sekvensointi avaa uusia mahdollisuuksia biomarkkerianalytiikassa.
2. Riittävien potilasaineistojen saamiseksi kansainvälinen yhteistyö on tärkeää.

Hyödyntämis- ja jatkotutkimustarpeet

Löytämiemme uusien asbestialtistukseen liittyvien keuhkosityövän ja mesoteliooman mutaatioiden varmentaminen suuremmalla potilasaineistolla on keskeinen jatko projektillämme.

Hankkeen aikana toteutunut sisäinen ja ulkoinen viestintä

Projektin johtaja on ollut päivittäin yhteydessä HI:ssa taphtuneeseen laboratorio-toimintaan. Hän on kliinisten tietojen keruuvaiheessa ollut tiiviissä yhteydessä Aija Knuuttilaan ja tietoja keränneeseen Milja Tikkaseen. Samaten hän on ollut jatkuvassa yhteydenpidossa asbestimäärityksistä ja histopatologiasta vastaaviin patologeihin Mikko Röntyyn sekä Henrik Wolffiin. HI:ssa Virinder Sarhadi, Satu Mäki-Nevala ja Pekka Ellonen ovat vastanneet sekvensointituloksista ja yhdessä projektin johtajan kanssa ratkoneet ongelmatapaukset. Tutkimustuloksia on esitetty ryhmän toimesta alan kansainvälisissä ja kotimaisissa kokouksissa ja konferensseissa . Projektin myötä on syntynyt yhteistyötä Barcelonan ja Veronan yliopistojen kanssa. Tämän myötä on projektin kokonaisuuteen liittyen syntynyt yhteisjulkaisuja. Yhteistyö mainittujen yliopistojen välillä on jatkumassa ja syventymässä.

Hankkeen tuleva viestintäsuunnitelma

Kun tutkimustulokset on varmistettu, viestintäsuunnitelmamme on esittää tulokset seuraavilla foorumeilla:

1. Duodecim, "in press"-osasto (8)
2. Mediutiset (9)
3. BestPractise (10)
4. iMig 2016
5. Keuhkosityöpäsymposium, Tuusula 2/2015

Hankkeessa valmistuneet julkaisut: artikkelit, esitelmät sekä niiden tekijät

Julkaisut:

1. Mäki-Nevala, S, Sarhadi VK, Tuononen K, Lagström S, Ellonen P, Rönty M, Wirtanen A, Knuutila A, Knuutila S. Mutated Ephrin Receptor Genes in Non-Small Cell Lung Carcinoma and Their Occurrence with Driver Mutations – Targeted Re-sequencing Study on Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded Tumor Material of 81 Patients. *Genes Chromosomes Cancer*. 52(12):1141-1149, 2013.
2. Tuononen K, Maki-Nevala S, Sarhadi V.K, Wirtanen A, Rönty M, Salmenkivi K, Andrews J.M, Telaranta-Keerie A.I, Hannula S, Lagstrom S, Ellonen P, Knuutila A. & Knuutila S. Comparison of Targeted Next-Generation Sequencing (NGS) and Real-Time PCR in the Detection of EGFR, KRAS, and BRAF Mutations on Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded Tumor Material of Non-Small Cell Lung Carcinoma-Superiority of NGS. *Genes Chromosomes Cancer*. 52(5):503-511, 2013.
3. Mäki-Nevala S, Rönty M, Morel M, Gomez M, Dawson Z, Sarhadi VK, Telaranta-Keerie A, Knuutila A, Knuutila S. Epidermal Growth Factor Receptor Mutations in 510 Finnish Non-Small Cell Lung Cancer Patients. *J Thorac Oncol*. 9(6):886-91, 2014.
4. Tuononen K, Sarhadi V.K, Wirtanen A, Rönty M, Salmenkivi K, Knuutila A, Remes S, Telaranta-Keerie A.I, Bloor S, Ellonen P. & Knuutila, S. Targeted Resequencing Reveals ALK Fusions in Non-Small Cell Lung Carcinomas Detected by FISH, Immunohistochemistry, and Real-Time RT-PCR: A Comparison of Four Methods. *Bio-Med Res Int*. Article Number: 757490, 2013.
5. Tuononen K, Kero M, Mäki-Nevala S, Sarhadi VK, Tikkanen M, Wirtanen T, Rönty M, Knuutila A, Knuutila S. ALK Fusion and Its Association with Other Driver Gene Mutations in Finnish Non-Small Cell Lung Cancer Patients. *Genes, Chrom & Cancer*. 53(11): 895-901, 2014.
6. Armengol G, Sarhadi VK, Rönty M, Tikkanen M, Knuutila A, Knuutila S. Driver gene mutations of non-small cell carcinoma are rare in primary carcinoids of the lung – NGS study by Ion Torrent. In Press. *Lung*. 2014.
7. Calìò A, Nottegar A, Gilioli E, Bria E, Pilotto S, Peretti U, Kinspergher S, Simionato F, Pedron S, Knuutila S, Tortora G, Eccher A, Santo A, Tondulli L, Inghirami G, Tabbò F, Martignoni G, Chilosi M, Scarpa A, Brunelli M. ALK/EML4 Fusion Gene May Be Found in Pure Squamous Carcinoma of the Lung. *J Thorac Oncol*. 9(5):729-32, 2014

8. Tuononen K, Maki-Nevala S, Sarhadi VK, Wirtanen A, Rönty M, Salmenkivi K, Andrews J.M, Telaranta-Keeria A.I, Hannula S, Lagström S, Ellonen P, Knuutila A & Knuutila S. Uuden Polven Sekvensointi Ylivertainen Keuhkosyövän Hoidollisesti Merkittävien Geenimuutosten Havaitsemisessa. "In press"-osio Duodecim. 2013.
9. Sakari Knuutila: Medi uutiset. "Täsmälääkkeet työllistävät laboratorioita yhä enemmän" nro:8-9 s. 12-13. 21.2.2014.
10. Knuutila S. Uuden polven sekvensointi syöpähoidon räätälöinnissä. BestPractise. 4:7-11, 2013.
11. Sarhadi VK, Lahti L, Scheinin I, Ellonen P, Kettunen E, Serra M, Scotlandi K, Picci P ja Knuutila S. Copy Number Alterations and Neoplasia-Specific Mutations in MELK, PDCD1LG2, TLN1, and PAX5 at 9p in Different Neoplasias. Genes, Chrom & Cancer. 53(7):579-88, 2014.
12. Kettunen E ja Knuutila S. Malignant mesothelioma (molecular markers). Clinical and Pathological Features, Assessment and Diagnosis. Anttila S, Boffetta P. & Straif K. Occupational Cancers. 2014.
13. Kane A.B, Jean D, Knuutila S ja Jaurand M-C. Mechanism of mesothelial carcinogenesis. Occupational Cancers: Clinical and Pathological Features, Assessment and Diagnosis. Anttila S, Boffetta P. & Straif K. Occupational Cancers. 2014.
14. Penny Nymark, Eeva Kettunen & Sakari Knuutila. Tumor of the lung. Heim S. & Mittelman F. Cancer Cytogenetics: Chromosomal and Molecular Genetic Abberations of Tumor Cells. In press.

Luennot & konferenssit:

- Sakari Knuutila: luennoitsija; Molecular biomarkers in asbestos –associated lung carcinoma and mesothelioma. The 11th Shinano River & Lake Hamana International Pathology Seminar, Nagoya, Japani. 12.-13.10.2013
- Virinder Sarhadi: luennoitsija; Molecular markers in non-small cell lung cancer: targeted sequencing approach. Haartman Seminaari, Helsinki. 19.9.2013

REFERENSSIT / LÄHDELUETTELO

1. Yang CH. EGFR tyrosine kinase inhibitors for the treatment of NSCLC in East Asia: present and future. *Lung Cancer* 60 Suppl 2, S23-30, 2008
2. Weiss GJ, Bemis LT, Nakajima E, Sugita M, Birks DK, Robinson WA, Varella-Garcia M, Bunn PA Jr, Haney J, Helfrich BA, Kato H, Hirsch FR, Franklin WA. EGFR regulation by microRNA in lung cancer: correlation with clinical response and survival to gefitinib and EGFR expression in cell lines. *Ann Oncol.* 19:1053-1059, 2008
3. Pircher A, Ploner F, Popper H, Hilbe W. Rationale of a re launch of gefitinib in Caucasian non-small cell lung cancer patients. *Lung Cancer* 69:265-271, 2010

LOPPURAPORTTI TYÖTERVEYSLAITOKSEN HANKEOSUUDESTA

Kyseessä on Helsingin yliopiston (HY) ja Työterveyslaitoksen (TTL) yhteishanke (Työsuojelurahaston hankenumerot 112268 ja 112269), jossa TTL:ssa tehty osuus yhteisessä tutkimuksessa painottuu keuhkokudoksen kuituanalyysihin perustuvaan asbestialtistumisen arviointiin. HY:n vastuulla olevan hankeosuuden loppuraportti on tätä TTL:n raportointiosuutta edeltävä osa, ja siitä ilmenee myös koko projektissa saavutetut tulokset. TTL:n osuuden on tarkoitus kuvata TTL:ssa tehty tutkimusosuus lähinnä täydentäen HY:n osuutta.

TIIVISTELMÄ

Tausta. Helsingin yliopiston ja Työterveyslaitoksen yhteishankkeen taustalla on tieto siitä, että tupakoivien ja asbestialtistuneiden keuhkosityöpä- ja mesotelioomapotilaiden ennuste on erittäin huono, ja toisaalta tiedetään, että molekulaarisilla biomarkkereilla on ennusteellinen ja hoidollinen merkitys keuhkosityövissä.

Tavoitteet. Yhteishankkeen tavoitteena oli erottaa keuhkojen adenokarsinoomat ja mesotelioomat molekulaarisiin alaryhmiin käyttämällä tämänhetkisiä uusia DNA-sekvensointimenetelmiä ja selvittää alaryhmien vastaavuus ennusteeseen, hoitovasteesseen, tupakointiin ja asbestialtistukseen. Tavoitteena oli saada esiin biomarkkereita, joita voidaan hyödyntää arvioitaessa taudin etiologiaa, erityisesti asbestialtistumisen roolia, ja joita toisaalta voidaan hyödyntää ennusteen ja hoitovasteen arvioinnissa.

Potilaat ja asbestialtistumisen arvioiminen keuhkojen asbestikuituanalyyseillä avulla. Yhteishankkeessa Työterveyslaitoksella tehtiin asbestikuitumäärityksiä 139 keuhkoadenokarsinoomapotilaan keuhkojen ei-syöpäisestä kohdasta otetuista näytteistä; tutkitut potilaat valittiin kliinisten tietojen ja altistumistietojen pohjalta. Työterveyslaitoksen tutkimusnäytteistä sisällytettiin löytövaiheen (koko perimänlaajuinen eksomisekvensointi) tutkimuksiin asbestille altistuneiden potilaiden keuhkosityöpiä 9 ja altistumattomien keuhkosityöpiä 17. Yhteensä hankkeessa tunnistettiin 171 keuhkon karsinoomaa, josta oli tieto keuhkojen kuituanalyyseistuloksesta.

Mesotelioomien suhteen ei useimmiten ole käytettävissä elinaikana irrotettua keuhkokudosta, josta syystä mesotelioomien tutkimista varten hyödynnettiin Työterveyslaitoksen tutkimusnäytteiden lisäksi HUS:issa todetuista mesotelioomista Työterveyslaitoksella tehtyjä kuituanalyysejä. Tutkimukseen soveltuvia mesotelioomia, joista oli tieto keuhkojen kuituanalyyseistä, tunnistettiin yhteensä 98 tapausta.

Yhteensä koko hankkeen eri osatavoitteita varten käytiin läpi kaiken kaikkiaan 892 keuhkosityöpä- ja mesotelioomapotilaan sairaskertomukset. Näistä kerättiin kliiniset tiedot, annetut hoidot, ennustetiedot, tupakointi ja asbestialtistustiedot.

Tulokset. Hankkeessa tehtyihin merkittäviin ns. aloitusmutaatioiden (EGFR-, ALK-, KRAS- ja BRAF -geenit; kuvattu tämän loppuraportin ensimmäisessä osassa) yleisyyttä kuvaaviin löydöksiin liittyen ei havaittu viitteitä siitä, että mainitut mutaatiot liittyisivät asbestialtistuneilla todettuun keuhkosityöpään. Käytetyllä laajalla eksomisekvensoinnilla löydettiin kuitenkin uusia mutaatioita, jotka aineistossamme liittyivät asbestialtistumiseen. Löydöksen tekninen varmentaminen rinnakkaismenetelmillä on tärkeää.

Johtopäätökset ja hankkeen hyödyt työterveyteen kohdistuvalle tutkimukselle. Tutkimuksessa voitiin potilaiden asbestialtistuminen kuvata erittäin tarkasti, koska oli mahdollisuus hyödyntää Työterveyslaitoksella tehtäviä elektronimikroskopisia keuhkojen asbestikuitumäärytyksiä. Tässä hankkeessa käytettiin hyväksi sekä tutkimustarkoituksessa että oikeuslääketieteellisen ammattitautiselvityksen yhteydessä tehtyjä kuitumäärytyksiä. Lisäksi Työterveyslaitoksella on kuitumäärytysten tueksi pitkäaikainen työhygieeninen sekä ammattitautidiagnostiikkaan liittyvä asiantuntemus asbestialtistumisesta. Tällainen tarkka altistumisen arviointi tarjoaa maailman mittakaavassa aivan poikkeuksellisen lähtökohdan tutkia asbestialtistumisen ja mahdollisten geneettisten muutoksien välistä yhteyttä. Raportoitavassa tutkimuksessa löysimme uusia asbestialtistumiseen liittyviä mutaatioita keuhkosyövässä ja mesoteliomassa. Nämä ovat tärkeitä alkuperäishavaintoja, joiden yhdistäminen asbestialtistumiseen tällä tarkkuudella ei olisi käytännössä ollut mahdollista ilman tätä yhteistyöhanketta.

Altistumiseen, ja erityisesti asbestialtistumiseen, liittyvien biolääketieteellisten merkkimuutosten löytäminen ja tällaisen assosiaation varmistaminen ovat erittäin haastavia tehtäviä, joissa eteneminen vaatii sekä erittäin hyvää altistumisen arviointia että erinomaista molekyylibiologisten menetelmien osaamista. Näistä syistä eteneminen usein tapahtuu pienin askelin tutkimus tutkimukselta ja tehdyt havainnot vaativat uusia tutkimuksia tuekseen. Tässä tehtyjen mutaatiohavaintojen todentaminen laajemmilla potilasaineistolla on keskeinen jatkotutkimuksen aihe.

LÄHTÖKOHTA JA TAUSTA

Keuhkosyöpä aiheuttaa kaikista syövästä eniten syöpäkuolemia maailmanlaajuisesti. Valta-osa keuhkosyövästä liittyy tupakointiin (n. 80 %). Lisäksi pieni (2-5 %), mutta työperäisen altistumisen keskeisen syyosuuden vuoksi merkittävä osa johtuu altistumisesta asbestille. Mesoteliomassa keskeisin syytekijä on puolestaan asbestialtistuminen.

Tiedetään, että tupakoivien ja asbestialtistuneiden keuhkosyöpä- ja mesoteliomapotilaiden ennuste on erittäin huono (5 vuoden elonjäämisosuus noin 5 %). Tupakoimattomilla keuhkojen adenokarsinomapotilailla on parempi ennuste kuin tupakoivilla potilailla [1], ja tupakoimattomilla potilailla molekulaarinen patogeneesi näyttää olevan erilainen kuin tupakoivilla [1]. Asbestialtistuneen potilaan keuhkosyövän erottamisella altistumattomien ryhmästä olisi huomattava merkitys työperäisen syövän tunnistamisessa. Hankkeessamme on tavoitteena löytää biomarkkereita, jotka ovat keskeisiä asbestialtistumiseen liittyvän keuhkosyövän kehittymisessä.

TAVOITTEET, TULOKSIEN HYÖTY JA SOVELLETTAVUUS

Molekulaarisen karakterisoinnin (uuden sukupolven DNA-sekvensointi ja mikroRNA -profilointi) tavoitteena oli löytää sekä tupakoimattomien ja asbestille altistumattomien että asbestialtistuneiden potilaiden syövästä molekyyli-tason biomarkkereita, joilla on ennusteellista merkitystä eri alaryhmien tunnistamiseksi.

Ei-pienisoluiset keuhkosyövät ja mesotelioomat pyrittiin luokittelemaan molekulaa-risiin alaryhmiin ja selvittämään alaryhmien vastaavuutta ennusteeseen, hoitovas-teeseen, tupakointiin ja asbestialtistukseen. Profiloinnilla tavoiteltiin biomarkkereita, joita voidaan hyödyntää arvioitaessa taudin etiologiaa (erityisesti asbestialtistumista ja myös tupakointia) sekä myös sellaisia, joita voidaan hyödyntää ennusteen ja hoi-tovasteen arvioinnissa (vaikutus hoidon valintaan) [2-4].

POTILAAT JA MENETELMÄT

Potilaat ja näytteet. Työterveyslaitoksen näytekokoelmista haettiin tutkimuksen löytövaihetta varten 9 asbestille altistuneiden potilaiden keuhkosityöpää ja 17 altistumattomien potilaiden keuhkosityöpää. Lisäksi Työterveyslaitoksen näytekokoelmista etsittiin 9 adenokarsinoomatapauksesta myös normaalikudoksen tai valkosolujen DNA:ta. Kliinisten ja altistumistietojen pohjalta tehtiin asbestikuitumääritykset 139 adenokarsinoomapotilaan keuhkojen ei-syöpäisestä kohdasta otetusta leikkausnäytteestä. Lisäksi TTL:ssa kerätyistä adenokarsinoomanäytteistä etsittiin ja evaluoitiin jatkoanalyysiin 9 altistuneen potilaan näyte.

Mesoteliomien suhteen ei useimmiten ole käytettävissä elinaikana irrotettua keuhkokudosta josta syystä mesoteliomia varten hyödynnettiin Työterveyslaitoksella tehtyjä keuhkojen kuituanalyysjä HUS:issa todetuista mesoteliomista. Lisäksi TTL:n mesoteliomanäytteistä etsittiin ja evaluoitiin 18 tapausta jatkoanalyysiin (17 altistunutta ja 1 altistumatonta potilasta). Mesoteliomia tutkittiin yhteensä 98 tapausta.

Yhteishankkeen tutkimuksia varten käytiin läpi kaiken kaikkiaan 892 keuhkosityöpä- ja mesoteliomapotilaan sairaskertomukset.

Keuhkojen asbestikuituanalyysit. Tutkittavien potilaiden asbestialtistumisen arviointi perustui Työterveyslaitoksella elektronimikroskooppisesti tehtyihin keuhkokudoksen asbestikuitumäärityksiin. Adenokarsinoomassa rajana työperäiselle altistumiselle pidettiin $>2.0 \times 10^6$ asbestikappaletta / grammaa kuivattua keuhkokudosta (gkk). Mesoteliomassa tämä altistumisen raja-arvo oli $> 1.0 \times 10^6$ / gkk. Työperäisesti altistumattoman adenokarsinoomatapauksen raja oli $< 1.0 \times 10^6$ / gkk ja mesoteliomassa vastaavasti $< 0.2 \times 10^6$ / gkk. Näyttemateriaalin sopivuutta kuituanalyysiin ja molekyylibiologiin analyysiin arvioivat tutkimusryhmän patologit dos. Mikko Rönty (HUSLAB) ja dos. Henrik Wolff (TTL).

TULOKSET

Kootuista tapauksista muodostettiin seuraavat adenokarsinoomaryhmät: 1) työssään asbestille altistuneita ja tupakoivia oli 32 tapausta; 2) asbestialtistumattomia ja tupakoivia oli 87 tapausta ja 3) asbestille altistumattomia ja tupakoimattomia oli 37 tapausta. Niitä, joiden asbestialtistuminen kuituanalyysissä jäi altistuneiden ja altistumattomien välialueelle (ns. harmaa alue) oli yhteensä 15 tapausta. Kaikkiaan adenokarsinomia tutkimuksessa oli yhteensä 171 tapausta.

Mesoteliomien suhteen muodostettiin vastaavasti seuraavat ryhmät: 1) asbestille altistuneita mesoteliomia oli 62 tapausta ja 2) asbestille altistumattomia oli 16 tapausta. Histo-patologisen luokittelun mukaan ns. sarkomatoideja mesoteliomia oli 12 tapausta. Altistumisryhmien väliin harmaalle alueelle jäi 8 mesoteliomaa.

Eksomisekvensointi (mutaatioanalyysit) suoritettiin tämän raportin ensimmäisessä osassa kuvatulla tavalla. Analysoidut tuumorinäytteet muodostuivat 26 adenokarsinooma- ja 21 mesotelioomapotilaasta. Mutaatioiden tekniset validointianalyysit tehtiin PCR-menetelmällä, kuten tämän loppuraportin ensimmäisessä osassa on kuvattu.

Altistumistietojen suhteen jaoteltuna analyysseja tehtiin seuraaville adenokarsinoomaryhmille: 1) tupakoimattomat, asbestille altistumattomat adenokarsinoomapotilaat – 1 tapaus; 2) tupakoivat, asbestille altistumattomat adenokarsinoomapotilaat – 16 tapausta sekä 3) tupakoivat, asbestille altistuneet adenokarsinoomapotilaat – 9 tapausta. Mesotelioomatapausten joukosta sekvensoitiin altistumisen suhteen seuraavat ryhmät: 1) asbestialtistuneet mesotelioomapotilaat – 18 tapausta ja 2) asbestille altistumattomat mesotelioomapotilaat – 3 tapausta.

Eksomisekvensoinnin tuottamien tulosten analysoinnissa tehtiin merkittävä havainto, kun löysimme asbestialtistuneilta potilailta uusia somaattisia eli syöpään liittyviä mutaatioita, joita ei löydetty altistumattomilta potilailta. Havaituille mutaatioille tehtiin myös lisäanalyysseja tulosten varmentamiseksi.

Saatujen merkittävien ja mielenkiintoisten tulosten todentaminen tehdään tässä tutkimuksessa kerätyssä laajemmassa potilasaineistossa. Tämän tutkimusryhmän muodostavat tapaukset, joista on kerätty tiedot keuhkojen kuitumääristä ja joista on tutkimusnäyte saatavissa.

TULOSTEN MERKITYS

Työterveyslaitoksen tutkimusalueen ja hankeosuuden valossa tutkimuksen tulosten keskeinen merkitys voidaan vetää yhteen seuraavasti:

- Tutkimuksemme kokosi ja tuotti tiedon 171 adenokarsinooman ja 98 mesoteliooman kuitumäärytyksistä. Tämä antaa erinomaisen mahdollisuuden arvioida asbestialtistumisen merkitystä näiden kasvainten patogeneesissä. Tutkimus perustuu mahdollisimman objektiiviseen altistumista kuvaavaan mittariin ja näin vahvistaa altistumiseen liittyvää tietopohjaa merkittävästi.
- Tutkimuksessa päästiin uusien asbestialtistukseen liittyvien biomarkkereiden jäljille. Jatkotutkimuksia kuitenkin tarvitaan löydöstemme vahvistamiseksi suuremmalla potilasaineistolla.
- Tutkimus selvitti ensimmäistä kertaa keskeisimpien keuhkosyövän ja mesoteliooman aloitusmutaatioiden yleisyyttä, kuten tämän loppuraportin alkuosassa on kuvattu.
- Uuden sukupolven sekvensointi osoittautui tutkimuksessa erittäin hyväksi menetelmäksi kliinisesti ja etiologisesti merkittävien mutaatioiden etsimisessä asbestialtistumiseen liittyvässä keuhkosyövässä ja mesotelioomassa. Uusimmat käytetyt menetelmät mahdollistavat myös hyvin pienen kudoksenäytteen (paraffiini-leikenäyte) tutkimisen niin, että siitä voidaan samanaikaisesti tunnistaa suuri määrä syöpien aloitusmutaatioita.

HYÖDYNTÄMIS- JA JATKOTUTKIMUSTARPEET

Löytämiemme uusien asbestialtistukseen liittyvien keuhkosyövän ja mesoteliooman mutaatioiden tutkiminen ja varmentaminen suuremmalla potilasaineistolla on keskeinen jatko projektillämme.

YHTEISTYÖ JA SEN MERKITYS YHTEISHANKKEESSA

Yhteishankkeessa tehty Helsingin yliopiston ja Työterveyslaitoksen tutkimusryhmien välinen yhteistyö on ollut aktiivista ja sujunut erittäin hyvin. TTL:n osuuden työryhmän ovat yhteistyöprojektissa muodostaneet vastaavana tutkijana toiminut Dos. Henrik Wolff sekä FT Eeva Kettunen, tutkimusprof. Kirsti Husgafvel-Pursiainen, projektiasistentti Helinä Hämäläinen, bioanalyytikko Sauli Savukoski, bioanalyytikko Jaana Kierikki ja erikoislaboratoriomestari Päivi Tuominen. TTL:n tutkimusryhmä on päivittäin ollut yhteydessä keskenään projektin TTL:n osuuteen liittyvistä käytännön järjestelyistä. Työterveyslaitoksen tutkimusryhmällä on ollut säännöllistä yhteydenpitoa HY:n osuudesta vastaavaan prof. Sakari Knuutilaan ja muihin tutkimusryhmän jäseniin, dos. Aija Knuuttilaan, bioanalyytikko Milja Tikkaseen ja väitöskirjatutkija FM Satu Mäki-Nevalaan.

Samaten on tarvittu yhteydenpitoa projektin patologioiden dos. Mikko Röntyn sekä Henrik Wolffin välillä. Tutkimustuloksia on esitetty ryhmän toimesta alan kansainvälisissä ja kotimaisissa kokouksissa ja konferensseissa. Sekä Helsingin yliopiston ryhmästä (Satu Mäki-Nevala ja Sakari Knuutila) että Työterveyslaitoksen ryhmästä (Henrik Wolff) osallistuttiin maailmanlaajuisesti merkittävimpään mesoteliomakongressiin, International Mesotelioma Interest Group - iMig 2014.

Yhteishanke on ollut erittäin onnistunut muoto raportoidulle tutkimukselle. Hanke on onnistuakseen tarvinnut hyvää asiantuntijaosaamista tutkittavien tapausten histopatologiasta ja kliinisestä taustasta, mahdollisimman tarkoista työperäistä asbestialtistumista ja tupakointia koskevista tiedoista sekä nykyhetken uusimmista molekyylibiologisista menetelmistä (ns. uuden sukupolven DNA-sekvensointi ja sen tulosten tulkinta). Hankkeessa toimineen kahden tutkimusryhmän yhteistyöllä kaikki tämä tarvittava osaaminen saatiin yhteen palvelemaan tehtyä tutkimusta. Samat asiantuntemusalueet on myös tarvittu tutkimuksen tuottamien tieteellisten kokonaistulosten tulkinnassa ja raportoinnissa.

Hankkeella on myös ollut läheinen yhteys toiseen Työsuojelurahaston rahoittamaan, asbestialtistumiseen liittyvän tutkimushankkeeseen, joka on tutkinut asbestille työssä altistuneiden ja altistumattomien keuhkosyöpäpotilaiden perimänlaajuisista metylaatiota keuhkokudoksessa. Hanke on tuoreesti raportoitu Työsuojelurahastolle (Husgafvel-Pursiainen K ja Kettunen E. Epigeneettiset muutokset kuitualtistumiseen liittyvän keuhkosyövän syöpämekanismina. Tietoa työstä, Työterveyslaitos, 2015).

TULOSTEN JULKISTAMINEN

Tutkimustuloksia on suunnitelmien mukaan julkaistu alan kansainvälisissä tieteellisissä julkaisusarjoissa sekä kansainvälisten kongressien esitelmissä ja abstrakteissa. Tarkoituksena on myös julkaista tuloksia suomenkielisissä lääketieteen alan ammattilehdissä (esimerkiksi Duodecim, Lääkärilehti, Medi uutiset).

HANKKEESSA VALMISTUNEET JULKAISUT

Julkaisut

EXOME SEQUENCING REVEALS NOVEL RECURRENT MUTATIONS IN ASBESTOS-EXPOSED LUNG ADENOCARCINOMA AND MALIGNANT MESOTHELIOMA

Satu Mäki-Nevala, Virinder Sarhadi, Ilari Scheinin, Pekka Ellonen, Mikko Rönty, Aija Knuutila, Eeva Kettunen, Kirsti Husgafvel-Pursiainen, Henrik Wolff and Sakari Knuutila. Abstrakti. International Mesothelioma Interest Group -kongressi, Kap-kaupunki, Etelä-Afrikka, lokakuu 2014.

Mäki-Nevala S, Sarhadi VK, Knuutila A, Scheinin I, Ellonen P, Lagström S, Rönty M, Kettunen E, Husgafvel-Pursiainen K, Wolff H, Knuutila S. Driver gene and novel mutations in asbestos-exposed lung adenocarcinoma and malignant mesothelioma detected by exome sequencing. *Lung*. 2015 Oct 13 [Epub ahead of print].

Kettunen E & Knuutila S. Malignant mesothelioma (molecular markers). *Clinical and Pathological Features, Assessment and Diagnosis*. Ed. Anttila S & Boffetta P. *Occupational Cancers*. 2014. Springer. pp.325-343.

Penny Nymark, Eeva Kettunen & Sakari Knuutila. Tumor of the lung. Ed. Heim S. & Mitelman F. *Cancer Cytogenetics: Chromosomal and Molecular Genetic Aberrations of Tumor Cells*. Wiley-Blackwell. ISBN: 978-1-118-79553-8. 4th edition, August 2015. pp. 361-372.

Luennot ja konferenssit

EXOME SEQUENCING REVEALS NOVEL RECURRENT MUTATIONS IN ASBESTOS-EXPOSED LUNG ADENOCARCINOMA AND MALIGNANT MESOTHELIOMA

Satu Mäki-Nevala, Virinder Sarhadi, Ilari Scheinin, Pekka Ellonen, Mikko Rönty, Aija Knuutila, Eeva Kettunen, Kirsti Husgafvel-Pursiainen, Henrik Wolff and Sakari Knuutila. Satu Mäki-Nevala, suullinen esitelmä kokouksessa International Mesothelioma Interest Group (IMiG 2014), Kap-kaupunki, Etelä-Afrikka, lokakuu 2014.

REFERENSSIT / LÄHDELUETTELO

1. Yang CH. EGFR tyrosine kinase inhibitors for the treatment of NSCLC in East Asia: present and future. *Lung Cancer* 60 Suppl 2, S23-30, 2008.
2. Weiss GJ, Bemis LT, Nakajima E, Sugita M, Birks DK, Robinson WA, Varella-Garcia M, Bunn PA Jr, Haney J, Helfrich BA, Kato H, Hirsch FR, Franklin WA. EGFR regulation by microRNA in lung cancer: correlation with clinical response and survival to gefitinib and EGFR expression in cell lines. *Ann Oncol.* 19:1053-1059, 2008.
3. Pircher A, Ploner F, Popper H, Hilbe W. Rationale of a re-launch of gefitinib in Caucasian non-small cell lung cancer patients. *Lung Cancer* 69:265-271, 2010.
4. Roggli VL, Anttila S, Kane AB, Inai K, Wolff H. Pathology and biomarkers. In: Oksa P, Wolff H, Vehmas T, Pallasaho P, Frilander H (Eds.). *Asbestos, asbestosis and cancer - Helsinki Criteria for diagnosis and attribution*. Finnish Institute of Occupational Health, Helsinki, 2014, p 123-151.

TYÖTERVEYSLAITOS

Työterveyslaitos
Arbetshälsoinstitutet
Finnish Institute of Occupational Health

Topeliuksenkatu 41 a A, 00250 Helsinki

www.ttl.fi

ISBN 978-952-261-559-6 (nid.)
ISBN 978-952-261-560-2 (PDF)



Työterveyslaitos