

# 原発性肺癌における治療後の再生検検体の遺伝子病理学的特徴の検討

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 三窪 将史

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

## 背景と目的

---

現在、進行肺癌に対する治療において、分子標的治療薬の果たす役割は大きい。EGFR 遺伝子変異や ALK 遺伝子再構成を有する肺癌に対しては、チロシンキナーゼ阻害剤が非常に有効であることが大規模臨床第Ⅲ相試験によって示され、治療法の選択には腫瘍の遺伝子プロファイルを確認することが必要とされている<sup>1-3</sup>。これらのチロシンキナーゼ阻害剤は初回治療において劇的な効果を示すものの、多くの症例ではその後に薬剤耐性を獲得する。EGFR チロシンキナーゼ阻害剤についてもいくつかの耐性機序が報告されているが、その 50-60%が EGFR 遺伝子の exon20 における T790M 遺伝子変異による<sup>4</sup>。最近になり、この T790M 遺伝子変異に対する新しい EGFR チロシンキナーゼ阻害剤が承認され、初回治療への耐性獲得後の治療選択肢の一つとなっている。今後も耐性機序に応じた個別化治療が進むと想定され、耐性機序の確認のためには初回治療後の再生検が重要となるが、採取部位・方法による検体の組織学的、遺伝子学的な特徴については不明な点が多い。本研究において、再生検検体における組織学的な特徴や生検部位による違い、それが遺伝子検査にもたらす影響を検討することで、日常診療のピットフォールを明らかにすることを目的とする。

## 対象と方法

---

**患者選択:** 過去 10 年間に分子標的治療もしくは殺細胞性抗癌剤治療後に増悪・再発を来し、治療後再生検が施行された原発性肺癌 260 例、315 検体について検討した。再生検検体には生検組織の他、切除生検や穿刺吸引細胞診、細胞診セルブロック検体も含めた。

**再生検検体の組織学的検討:** 同一患者から採取された治療前後の検体の組織学的特徴を比較した。これまでの経験から、治療後の生検においては、治療前の生検と比較して得られる腫瘍細胞量が少なく、繊維化が多い印象が持たれる。このため、腫瘍細胞量および線維化についてデジタル画像解析システムを用いて定量的な検証を行った (Figure 1)。さらに採取部位による組織学的な差異を検討するため、採取部位毎も同様の定量的検討を行った。

**遺伝子学的検討:** 肺癌の発生に関わるドライバー遺伝子(EGFR, ALK, BRAF, HER2, RET)について検索し、治療前後で遺伝子異常の検出率が異なるか、検体採取部位による検出率の違いがあるかについて検討した。また、EGFR チロシンキナーゼ阻害剤に対する耐性遺伝子(EGFR T790M)変異について、各臓器での耐性遺伝子の出現頻度を検討した。遺伝子検査は RNA を用いた RT-PCR および Direct sequence 法、DNA を用いた Cycleave PCR 法、フラグメント法、FISH 法を用いた。

## 結果

---

検体の採取部位、採取方法は以下の通りである。採取部位は肺生検 116 (37%)、胸水セルブロック 96 (30%)、リンパ節生セルブロック/生検 22/20 (9/6%)、肝生検 16 (5%)、髄液細胞診 12 (4%)、胸膜生検 10 (3%)、心嚢水セルブロック 10 (3%)、骨生検 7 (2%)、その他 6 (2%)であった。

治療前後の肺生検検体内の腫瘍細胞および線維化含有率を算出したところ、治療前に比較して治療後検体では腫瘍含有率が低く( $31.7 \pm 2.6\%$  vs  $14.8 \pm 2.0\%$ ,  $p < 0.0001$ )、線維化占有率が高値であった( $19.6 \pm 2.2\%$  vs  $6.6 \pm 1.0\%$ ,  $p = 0.0002$ )(Figure 2)。また、各生検部位における腫瘍検出率は肝 100%、胸膜 100%、リンパ節 91%、肺 89%で高く、これらの検体では含まれる腫瘍細胞量も多い傾向にあった。

再生検検体において遺伝子検査が行われたものは272検体であった。このうち腫瘍細胞が含まれないもしくは検出感度以下の症例は49検体あり、再生検検査全体の遺伝子検査の成功率は82%であった。遺伝子検査における変異検出例、非検出例を採取部位、採取方法別に検討したところ、リンパ節、肝、胸膜から採取された検体では遺伝子検査の成功率が高く、骨や胸水では低い傾向にあった。

EGFR 変異症例 164 例中、再生検検体において EGFR T790M 変異を検出した症例は 66 例 (40%)であった。採取部位別の検出頻度は肝(75%)、心嚢水(67%)、胸膜(67%)で高く、リンパ節 (19%)や髄液(10%)で低い傾向にあった。

## まとめ

---

1. 再生検検体では腫瘍含有率が低下することから、画像上 viable な部位を生検する、複数回生検するなどの腫瘍細胞を十分採取するための工夫を要することが示された。
2. 検体の採取部位により腫瘍細胞量および遺伝子検査の成功率は異なり、肝、リンパ節、胸膜では遺伝子検査の成功率が高く、骨や胸水では低い傾向がみられた。生検のターゲットとなる病変が複数個所ある場合、これらの所見が検査の精度を高めるための参考所見となり得る。
3. 耐性変異 EGFR T790M は腫瘍細胞の検出量や遺伝子検査の成功率との明らかな相関はみられず、その発現は採取臓器によって heterogeneity があることが示唆された。

## 文献

---

- 1) Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, Yang CH, Chu DT, Saijo N, Sunpaweravong P, Han B, Margono B, Ichinose Y, Nishiwaki Y, Ohe Y, Yang JJ, Chewaskulyong B, Jiang H, Duffield EL, Watkins CL, Armour AA, Fukuoka M. Gefitinib or carboplatin–paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. *N Engl J Med* 2009;361(10): 947–57.
- 2) Mitsudomi T, Morita S, Yatabe Y, Negoro S, Okamoto I, Tsurutani J, Seto T, Satouchi M, Tada H, Hirashima T, Asami K, Katakami N, Takada M, Yoshioka H, Shibata K, Kudoh S, Shimizu E, Saito H, Toyooka S, Nakagawa K, Fukuoka M. Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJOG3405): an open label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2010;11(2):121–128.
- 3) Solomon BJ, Mok T, Kim DW, Wu YL, Nakagawa K, Mekhail T, Felip E, Cappuzzo F, Paolini J, Usari T, Iyer S, Reisman A, Wilner KD, Tursi J, Blackhall F. First-line crizotinib versus chemotherapy in ALK-positive lung cancer. *N Engl J Med* 2014;371:2167– 77.

4) Sequist LV1, Waltman BA, Dias-Santagata D, Digumarthy S, Turke AB, Fidias P, Bergethon K, Shaw AT, Gettinger S, Cospers AK, Akhavanfard S, Heist RS, Temel J, Christensen JG, Wain JC, Lynch TJ, Vernovsky K, Mark EJ, Lanuti M, Iafrate AJ, Mino-Kenudson M, Engelman JA. Genotypic and Histological Evolution of Lung Cancers Acquiring Resistance to EGFR Inhibitors. *Sci Transl Med* 2011;3:75ra26.

Figure 1 デジタル画像解析システムを用いた定量的検討

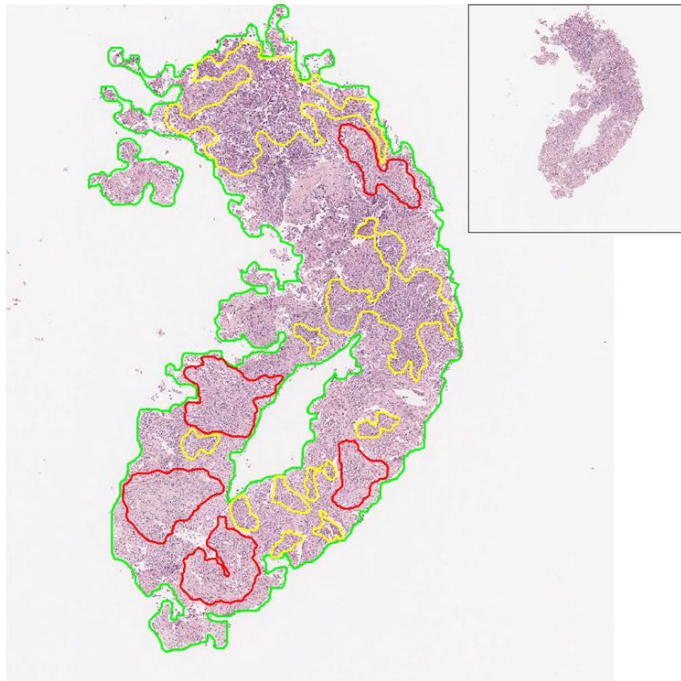


Figure 2 生検検体における腫瘍細胞占有率と線維化占有率の治療前後の比較

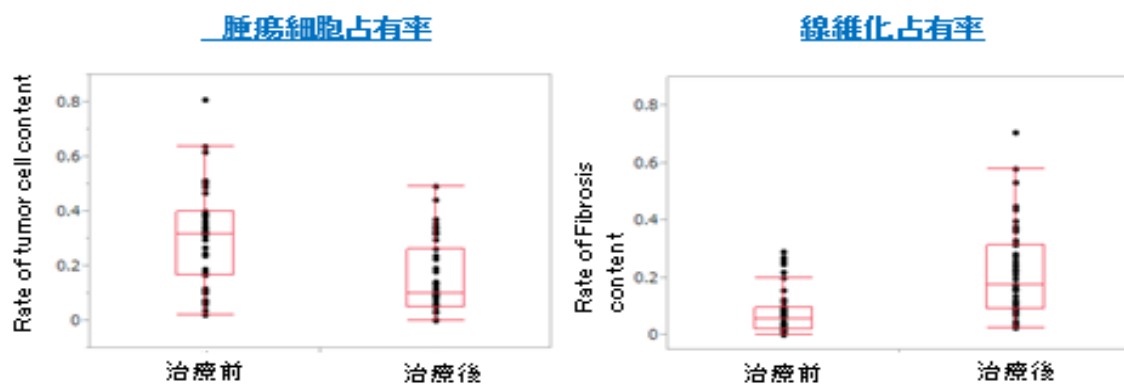


Table 1 再生検検体における遺伝子検査の成功率

	N	変異検出例	変異非検出例		計	成功率
			腫瘍細胞なし	腫瘍細胞検出感度以下		
生検						
肺	84	71	9	4	16	85%
リンパ節	18	17	1	0	5	94%
肝	15	14	0	1	1	93%
胸膜	10	10	0	1	2	90%
骨	4	1	2	1	3	25%
皮下組織	2	2	0	0	0	100%
胸壁	1	1	0	0	0	100%
副腎	1	1	0	0	0	100%
FNA						
胸水セルブロック	95	70	9	16	30	74%
心嚢水セルブロック	9	8	1	0	1	89%
リンパ節セルブロック	19	18	0	1	2	95%
髄液細胞診	12	10	1	1	2	83%
皮下組織セルブロック	2	1	0	1	(1)	50%
合計	272	223	23	26	63	82%