

綜 説

## 肺腺癌における新組織分類と遺伝子解析

吉澤 明彦

信州大学医学部病態解析診断学講座

### New Histological Subtype of Lung Adenocarcinoma in Association with Specific Molecular Tests

Akihiko YOSHIZAWA

Department of Laboratory Medicine, Shinshu University School of Medicine

**Key words:** lung adenocarcinoma, histological subtype, International Association for the Study of Lung Cancer (IASLC)/the American Thoracic Society (ATS)/the European Respiratory Society (ERS) classification, EGFR mutated lung cancer, EML4-ALK fusion lung cancer

肺腺癌, 組織学的亜型, 肺癌研究のための国際協会 (IASLC)/米国胸部学会 (ATS)/欧州呼吸器学会 (ERS) 分類, EGFR 変異肺癌, EML4-ALK 癒合肺癌

#### I はじめに

肺癌は世界的に罹患率, 死亡率ともに極めて高い悪性上皮性腫瘍で, 年間130万人 (米国: 16万人, 日本: 7万人) の腫瘍死を来している。これまで肺癌は治療的観点から非小細胞癌と小細胞癌に分類されてきた。非小細胞癌のうち, 最も多くかつ近年増加傾向にあり, また遺伝子変異に関連した特異的治療が注目されているのが肺腺癌である。

本稿では, 近年提唱された肺腺癌の新組織亜分類に加え, 治療戦略上重要な肺腺癌の遺伝子異常およびその検索法に関して解説する。

#### II 肺腺癌の組織学的亜分類改訂 —病理組織分類の意義と可能性—

正しい治療は正しい診断なくして成り立たない。がんは病理組織学的検索を基盤に診断がなされ治療が行われてきたが, 肺癌も例外ではない。一般的に腺癌は特徴的な管腔構造や粘液の産生をもって診断されるが, 肺腺癌の多くは多彩な組織像が混じり合う。現在肺腺癌は, 2004年に刊行された第4版の世界保健機構の組

織分類 (以下 WHO 分類) に準拠して組織学的亜分類がなされており (表1), 本邦の肺癌取扱い規約も, これを踏襲している<sup>1)2)</sup>。しかしこの分類には以下に挙げるいくつもの問題点が指摘されてきた。少々詳細な記載になるが以下に列挙する。

#### A 現行肺腺癌の亜分類の問題点

##### 1 細気管支肺胞上皮癌 (bronchioloalveolar carcinoma: BAC) の問題

BACは既存の肺胞上皮を置換するように一層の腫瘍細胞が増殖する腫瘍で (これを近年は lepidic growth pattern (LGP) という), 1999年刊行の第3版の WHO 分類から非浸潤癌として扱われている (表1)。BACの言葉自体は WHO 分類第1版から存在するが (表1), 世界的には, 本邦野口らの報告<sup>3)</sup>にあるような5年生存率100%の末梢孤立性小型腺癌から予後不良な浸潤癌まで広汎に含まれ<sup>4)</sup>, 混乱のもとになっている。

##### 2 微小浸潤癌の存在

非浸潤癌と浸潤癌の間に生物学的にその中間的な腫瘍が存在することが, 野口らの報告以来, 特に日本から多くの報告がなされている<sup>3)5)~7)</sup>。しかしその定義, 意義は定まっていない。

##### 3 混合型腺癌 (adenocarcinoma, mixed subtype) の問題

別刷請求先: 吉澤 明彦 〒390-8621  
松本市旭3-1-1 信州大学医学部病態解析診断学講座  
E-mail: akyoshi@shinshu-u.ac.jp

表1 肺腺癌のWHO組織分類の変遷

1st (1967)	2nd (1981)	3rd (1999)	4th (2004)
Bronchogenic		ADC with mixed subtypes	ADC, mixed subtype
Acinar	Acinar ADC	Acinar ADC	Acinar ADC
Papillary	Papillary ADC	Papillary ADC	Papillary ADC
Bronchioloalveolar ca. (BAC)	BAC	BAC	BAC
		Non-mucinous	Non-mucinous
		Mucinous	Mucinous
		Mixed	Mixed
	Solid ca. with mucous formation	Solid ADC with mucin	Solid ADC with mucin production
		Variants	Variants
		Well-diff. fetal ADC	Fetal ADC
		Mucinous (colloid) ADC	Mucinous (colloid) ADC
		Mucinous cystadenoca.	Mucinous cystadenoca.
*ADC: adenocarcinoma		Signet-ring ADC	Signet-ring ADC
**ca.: carcinoma		Clear-cell ADC	Clear-cell ADC

表2 IASL/ATS/ERS分類

IASLC/ATS/ERS Classification of Lung Adenocarcinoma in Resection Specimens	
Preinvasive lesions	
	Atypical adenomatous hyperplasia
	Adenocarcinoma in situ ( $\leq 3$ cm formerly BAC)
	Nonmucinous
	Mucinous
	Mixed mucinous/nonmucinous
Minimally invasive adenocarcinoma ( $\leq 3$ cm lepidic predominant tumor with $\leq 5$ mm invasion)	
	Nonmucinous
	Mucinous
	Mixed mucinous/nonmucinous
Invasive adenocarcinoma	
	Lepidic predominant (formerly nonmucinous BAC pattern, with $> 5$ mm invasion)
	Acinar predominant
	Papillary predominant
	Micropapillary predominant
	Solid predominant with mucin production
Variants of invasive adenocarcinoma	
	Invasive mucinous adenocarcinoma (formerly mucinous BAC)
	Colloid
	Fetal (low and high grade)
	Enteric

略語：BAC, bronchioloalveolar carcinoma；IASLC, International Association for the study of Lung Cancer；ATS, American Thoracic Society；ERS, European Respiratory Society.

元来、肺腺癌は構造的多彩性に富み、一つの腫瘍内に多くの形態像がみられる。本亜分類はWHO分類3版から登場しているが、現在多くの肺腺癌がこの亜分類に入れられてしまい、亜分類として意味をなさなくなっている<sup>8)-10)</sup>。

4 微小乳頭腺癌 (micropapillary adenocarcinoma) の取り扱い

乳癌など他の臓器で報告が続いた微小乳頭腺癌の存在が、2002年 Amin らの報告以来、肺腺癌でもリンパ節転移と相関し、予後不良な亜型として提起がされ

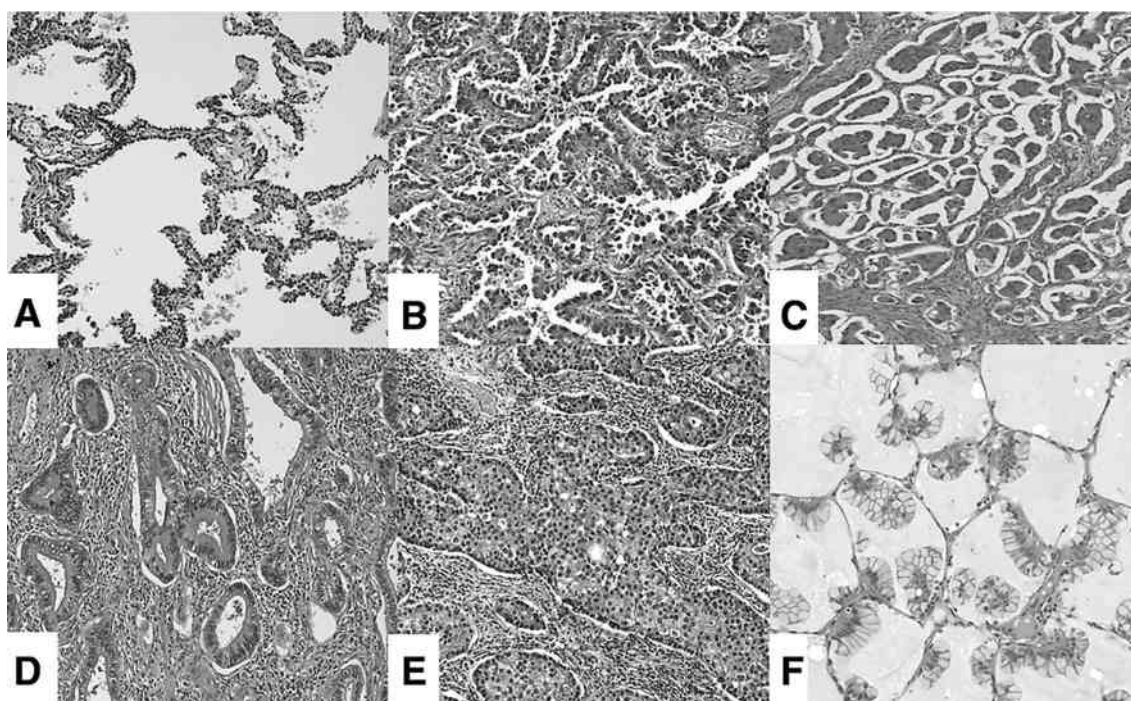


図1 肺腺癌における代表的な組織パターン (H&E 染色)

A非粘液性肺胞置換性パターン (lepidic growth pattern, non-mucinous)；B乳頭状パターン (papillary pattern)；C微小乳頭状パターン (micropapillary pattern)；D腺房状パターン (acinar pattern)；E充実性パターン (solid pattern)；F粘液性肺胞置換性パターン (lepidic growth pattern, mucinous)．あくまでも代表像であり，それぞれの代表像の最も多いものが，浸潤径とあわせ亜分類として診断される (文献21より引用)

た<sup>11)-14)</sup>。しかしながら肺腺癌の組織亜型として，現在これに相当する項目はない。

## B 肺腺癌の新亜分類 (IASLC/ATS/ERS 分類) の提案

以上の点をふまえ，2011年に International Association for the Study of Lung Cancer (IASLC)，the American Thoracic Society (ATS) および the European Respiratory Society (ERS) が合同で，新たな亜分類を提唱した (IASLC/ATS/ERS 分類) (表2)<sup>15)</sup>。今回新たに設定された主な項目の特徴を述べた後，その分類の意義について言及する。

### 1 上皮内腺癌・非浸潤癌：adenocarcinoma in situ (AIS)と微少浸潤腺癌：minimally invasive adenocarcinoma (MIA)

新分類の柱の一つは BAC という言葉を使用しないことにある。現行の WHO 分類でも，BAC を非浸潤癌と定義しているにもかかわらず，欧米での使われ方としてはそうでなかったことが，BAC の廃止に至った経緯である。その組織学的特徴は，純粋な LGP のみを示す腫瘍で，その亜 (亜) 分類としては，粘液産生のない non-mucinous type (図1 A) と粘液産生

性の mucinous type (図1 F) がある。この変更に大きく寄与した野口論文の分類によると<sup>3)</sup>，Noguchi type A (LGP のみを示す腫瘍) およびそれに加えわずかな虚脱のある Noguchi type B が AIS にあたる。またこれに 5 mm 以下の浸潤部あるいは線維化巣 (myofibroblastic stromaないしfibrous stroma)がある場合は MIA とされ，LGP に線維化を伴った Noguchi type C の多くがこれにあると考えるとわかりやすい。

### 2 浸潤性腺癌：invasive adenocarcinoma

IASLC/ATS/ERS 分類では，その主要な成分，すなわち，肺胞置換性パターン (LGP：図1 A，1 F)，乳頭状パターン (papillary pattern：図1 B)，腺房状パターン (acinar pattern：図1 D)，充実性パターン (solid pattern：図1 E) が優位なものをそれぞれ，lepidic predominant adenocarcinoma (LPA)，papillary predominant adenocarcinoma (PPA)，acinar predominant adenocarcinoma (APA)，solid predominant (with mucin production) adenocarcinoma (SPA) と提起した (表2)。“lepidic” という単語に対する適切な日本語訳はなく“肺胞置換性”



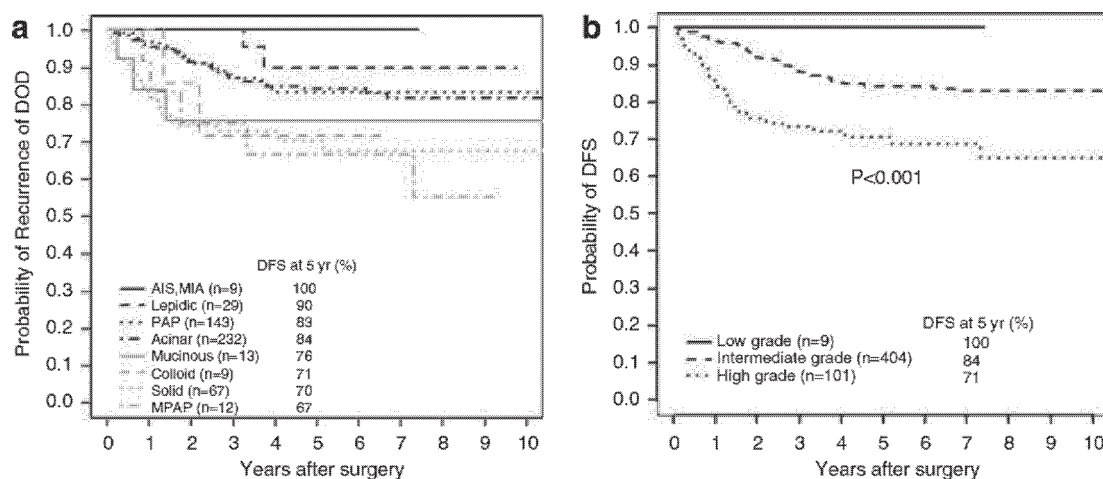


図2 IASLC/ATS/ERS分類と予後の相関

a では一見各組織亜型の生存曲線は混ざり合っているが、bのように AIS/MIA group (low grade), LPA/APA/PPA group (intermediate grade), SPA/MPPA group (high grade) に単純化するとその有用性が明確になる (文献10より引用)

という訳が意識として用いられることが多い。その決定にはそれぞれパターンの比率を5-10%ごとで表し算定する方法が提唱されている<sup>9)-10)16)</sup>。

### 3 微小乳頭状腺癌: micropapillary predominant adenocarcinoma

微小乳頭状パターン (micropapillary pattern) とは、乳頭状パターンとは異なり、線維血管性の間質軸を欠いた細胞小集塊の浮遊像が特徴である (図1C)<sup>11)-14)</sup>。IASLC/ATS/ERS分類ではそれが優位なものを、micropapillary predominant adenocarcinoma (MPPA) として独立させることが提起された。ただし、微小乳頭状パターンが優位でなくとも、その存在が予後不良因子であることが報告されており、存在が確認されれば記載すべきと考える<sup>17)</sup>。

### C IASLC/ATS/ERS分類と予後相関

腫瘍組織分類は、分類のための分類であってはならない。ましてや病理医の声の大きさや妥協の産物であってならない。臨床的に意義あるものであるのか否か、それが一番の問題である。この新分類は2008年より各国の病理医らが複数回集まり、議論を重ねられ、筆者を含め非常に多数の病理医が reviewer panel として参加し、結果2011年にきわめて長大な論文として発表された<sup>15)</sup>。その後、各国から予後に関する検証報告がなされることで、その有用性の肉付けがされていった<sup>10)18)-21)</sup>。総じて、AIS/MIA group, LPA/APA/PPA group, SPA/MPPA group の順で予後不良であることが示唆されており<sup>10)</sup>、その有用性が証明されつつある (図2)。病理診断はとかく主観的な性格が

高いことも指摘されているが、異なった地域の、異なった病理医からの報告でもその頻度、予後はおおむね一致し、また、病理医間の一致率を検討した報告も集積しつつあり<sup>22)23)</sup>、2015年に刊行が予定されている次期WHO分類にそのまま踏襲されるといわれている。

### D IASLC/ATS/ERS分類の課題

IASLC/ATS/ERS分類は構造異型のみを基本にしている。予後相関の観点では、細胞異型の重要性もあげられており<sup>24)</sup>、むしろ細胞異型でみた方が病理医間の一致率も高いとの報告もある<sup>25)</sup>。今後は構造異型、細胞異型を含めた、乳癌における Bloom-Richardson 分類のような<sup>26)</sup>、分化度分類も検討されるかもしれない。

治療方針は、一般的に組織型、亜分類もさながら国際対がん連合 (UICC) の発行する TNM 分類に基づいて行われている<sup>27)</sup>。TNM 分類の基本方針として腫瘍因子 (T factor) は浸潤径により規定される。そうすると AIS は浸潤部 0 mm となり、他臓器の癌の TNM 分類に照らし合わせると Tis とせざるをえない。また、5 mm までの浸潤癌は乳癌でいうところの T1mi (microinvasive carcinoma) とするのか、あるいは現状の T1a とするのか、結論はでていない。画像的に 30 mm の腫瘍でも、理論的には浸潤がなければ Tis となる症例があるのは、少し違和感が残る。2017年には第8版の TNM 分類の発刊が予定されている。それまでに解決しなければならない課題である。

### E 生検材料あるいは細胞診材料での報告様式

前述までの記載は切除された組織標本における評価

## 生検、細胞診での診断

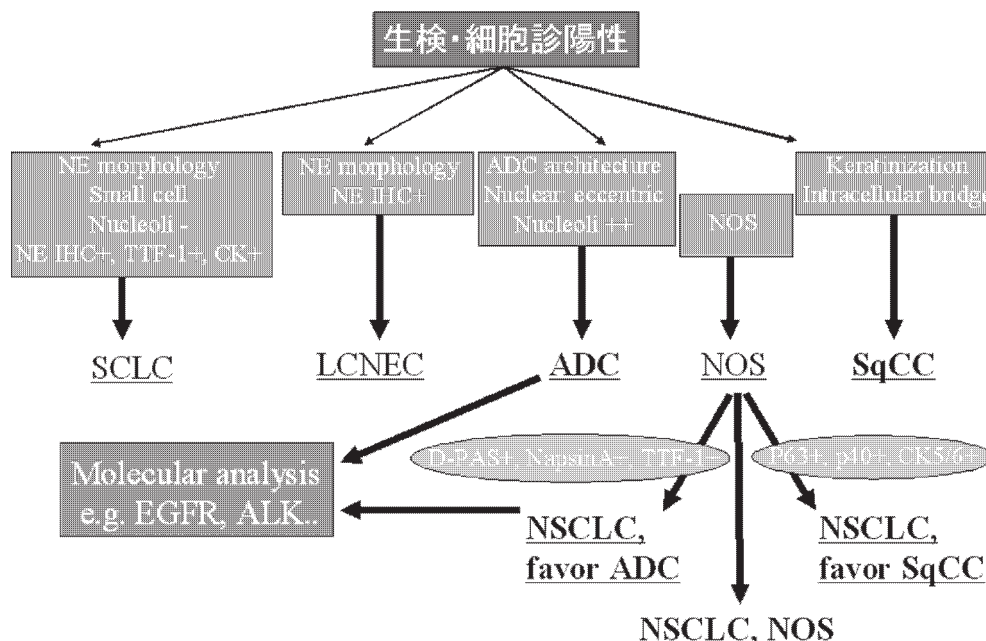


図3 肺生検材料，細胞診材料による診断過程と診断（文献15より改変し引用）

- 1) SCLC (Small cell lung carcinoma), 小細胞癌
- 2) LCNEC (Large cell neuroendocrine carcinoma), 大細胞神経内分泌癌
- 3) ADC (adenocarcinoma), 腺癌
- 4) SqCC (Squamous cell carcinoma), 扁平上皮癌
- 5) NSCLC (Non-small cell lung carcinoma), 非小細胞癌
  - (ア) NSCLC, favor ADC, 非小細胞癌, 腺癌疑い
  - (イ) NSCLC, favor SqCC, 非小細胞癌, 扁平上皮癌疑い
  - (ウ) NSCLC, NOS, 非小細胞癌, 分類不能

略称：NE, neuroendocrine ; NOS, not otherwise specified ; IHC, immunohistochemistry

が主体で，これは WHO 分類の本質でもある。しかし肺癌の半数以上は手術適応がなく，そのような場合生検材料あるいは細胞診材料での診断が治療戦略上，重要となってくる。IASLC/ATS/ERS 分類を掲載した論文には，診断過程を記したフローチャートおよびそれに基づいた生検報告様式（図3）が示されている。

生検材料による病理診断と手術によって採取された材料による病理診断は異なる場合がある。元々，大細胞癌は腫瘍の全体像を検索して，特異的な分化がないことをもって診断されるため，生検材料による病理診断項目にはなく，その代わり生検診断では“非小細胞癌，低分化型（あるいは分類不能型）”となる。また，腺扁平上皮癌も同様で，生検分類上は存在しない。図3のようにこの診断過程には分化方向を規定する特殊染色／免疫染色（D-PAS, NapsinA, TTF-1, p63, p40, CK5/6など）や後述する遺伝子変異の検索が入り込んでいる。実際臨床医からは，表2で示した組織

亜分類よりむしろ，“上皮成長因子受容体（EGFR）変異型腺癌”といった治療に沿った腫瘍分類の方がいいのではないかという意見があげられている。しかし，組織学的診断名，免疫染色の動態を加味した診断名および遺伝子異常を主眼とした診断名は別に扱った方がいいのではないかと筆者は考える。組織学的診断名は古典的でありながらも非常に再現性も高く信用のおけるものである。比して，免疫染色を加味した診断名は，その古典的診断に加え，特異的なタンパクの発現の支持を得て診断されるもので，新しい手法（抗体）が出現した場合，変わっていく可能性がある。同じことは遺伝子異常を主眼においた診断にもいえる。こうした組織学的診断に付随する体外診断薬を近年はコンパニオン診断薬 Companion diagnostics (CDx) といい，個別化医療に必須な診断ツールとして広がっている。CDx による判定は始まったばかりで，その評価も定まったものではない。将来新たな方向性が展開さ

れる可能性もあり、組織診断とCDxによる判定を現段階では別に取り扱った方が賢明であると、筆者は考える。次項に肺腺癌における遺伝子異常について記す。

### III 肺腺癌における遺伝子解析の意義

肺腺癌も他の悪性腫瘍同様、癌化のメカニズム、予後の推定、そしてその診断を目的に多くの遺伝子解析が行われてきた。その結果、多数の癌遺伝子の活性化、癌抑制遺伝子の不活性化、およびエピジェネティックな変化が確認されるに至っているが、原因や組織学的多彩さを反映してか、遺伝子異常も多彩である。Dingらの肺腺癌を対象とした多施設、大規模、網羅的な遺伝子解析では肺腺癌の発癌に関与する可能性の高い遺伝子が26個確認された<sup>28)</sup>。そのうち、EGFRを含めたチロシンキナーゼの変異が特に高頻度に見つかり、他にも多くの遺伝子異常が含まれていることが改めて明らかとなった。とりわけ、EGFRの遺伝子異常は、その治療法と相まって近年注目されている事項であり、詳細にふれる。

#### A-1 肺腺癌とEGFR遺伝子異常、そしてチロシンキナーゼ阻害薬

EGFRは膜貫通型受容体型チロシンキナーゼの一つであり、細胞外のリガンドが、その細胞外ドメインに結合すると接合体を形成し、細胞内ドメインのチロシンキナーゼによる自己リン酸化（活性化）をおこすことによって、細胞内の様々な分子を活性化し、細胞の増殖や生存に関するシグナルを伝える役割を担っている<sup>29)</sup>。

2004年、このEGFR遺伝子のチロシンキナーゼをコードしている部分に変異が存在する肺腺癌症例では、EGFRチロシンキナーゼを特異的に阻害する薬剤（EGFR-TKI）、ゲフィチニブ（商品名：イレッサ）が、極めて有効であることが示された<sup>30)31)</sup>。本邦ではこれに先立ち2002年に肺癌の治療薬としてイレッサが認可されていたが、劇的に効果を発揮する症例がある反面、比較的多くの症例で治療に無反応であるばかりか致死的な肺傷害を起こすことが経験されていた。前述の報告は、特異的な阻害薬により大きな効果がもたらされるといふ肺非小細胞癌における個別化治療の口火をきったこととしても非常に意義深いものであった。2010年には、アジアからEGFR変異肺癌に対するゲフィチニブの効果を示した大規模な研究成果が報告された<sup>32)</sup>。この論文では、非喫煙アジア人における治療歴のない

進行肺腺癌において、治療の第一選択薬としてゲフィチニブを用いることは、従来の白金製剤による化学療法に比し有意に無増悪生存期間を延長したということが示された。同年、ヨーロッパ（スペイン）からの大規模研究においても、EGFR-TKIの一つであるエルロチニブ（商品名：タルセバ）を用いた検討にて、同様の結果が報告された<sup>33)</sup>。また、日本人を対象とした大規模研究の報告もされ<sup>34)</sup>、進行肺腺癌における、EGFR-TKIの有用性が定まってきた。こうした分子標的薬は従来の白金製剤を基盤とした化学療法に比し、有害事象も軽度であり、症例を絞って使用することは非常に有効であり、近年の肺癌研究の大きな成果の一つである。

#### A-2 EGFR遺伝子異常の検索

どのような検査の結果に基づいてEGFR-TKIを用いばいいのであろうか。本来、厳格な検査法の確立の後、それに基づき治療が行われ、その効果が世に示されるのが理想である。しかし、EGFR遺伝子異常の判定法は多彩で、それぞれの臨床的結論もそれぞれの論文で異なった判定法のもと示されたものであることに注意を要する必要がある。

歴史的にEGFR遺伝子異常は、①蛋白の発現（免疫染色：IHC）、②DNAのcopy数の増加（FISH）、③遺伝子変異、という三つの方法で判定されてきた。Hirschら<sup>35)</sup>の進行非小細胞癌例におけるゲフィチニブ投与試験（ISEL試験）の報告を紹介する。この報告では、EGFRの蛋白陽性例（IHC）は69.7%、EGFR遺伝子のgene copy数増加例（FISH）は30.8%、EGFR遺伝子変異例は12.1%であり、IHCおよびFISHによる結果は、ゲフィチニブを用いた治療の効果予測因子となることが示された。一方、EGFR遺伝子変異の結果は効果予測因子としては不十分なものであった。また、Cappuzzoら<sup>36)</sup>は同様の検討の末、FISHによるcopy数の増加のみが多変量解析にてゲフィチニブの治療効果と相関することを示した。別のEGFR-TKIであるエルロチニブを用いた同様の検討（BR21試験）でも、EGFR-TKIの治療効果の検討にはIHCおよびFISHが予後予測因子になる反面、EGFR遺伝子変異検索はそうならないことが示された<sup>37)</sup>。こうした白人を対象とした大規模研究の結果をもって、欧米（特に北米）では、EGFR-TKIの治療適応症例をFISHによる検索で選定することが一般化されていった。一方、日本を含めたアジアからの報告は、EGFR遺伝子変異の有無が治療感受性に対す



表3 EGFR 遺伝子変異の検査法 (日本肺癌学会編 EGFR 遺伝子変異検査の解説より引用)

方法	感度 (%変異 DNA)	見いだされる 変異	欠失, 挿入の 包括的解析
直接塩基配列決定	25	既知, 未知	可
PCR-SSCP	10	既知, 未知	可
Taqman PCR	10	既知のみ	不可
Loop hybrid motility shift assay	7.5	既知のみ	可
Cycleave PCR	5	既知のみ	—
PCR-RFLP	5	既知のみ	不可
Length (fragment) analysis	5	—	可
MALDI-TOF based	5	既知のみ	不可
PNA-LNA PCR clamp	1	既知のみ	不可
Scorpion ARMS	1	既知のみ	不可
dHPLC	1	既知, 未知	可
Single molecule sequencing	0.2	既知, 未知	可
Mutant enriched PCR	0.2	既知のみ	不可
SMAP	0.1	既知のみ	不可

る予後予測因子であるというものが大半を占めた。日本肺癌学会から発表されている EGFR 遺伝子検査の解説では、奏効率においては遺伝子変異例がよく相関がありそうだが、全生存期間の予測因子としての結論はでていない、と現状を俯瞰している<sup>29)</sup>。ただし、2010年来発表されている大規模研究での EGFR の検索は専ら遺伝子変異を基盤に患者を振り分けており、現在では、遺伝子変異の検索が gold standard になっている<sup>32)–34)</sup>。

EGFR の遺伝子変異はほぼ定まった部位に発生する。エクソン19の欠失変異とエクソン21コドン858のロイシン→アルギニンの変異 (L858R) が代表的で、両者で EGFR 遺伝子異常の90%以上を占める<sup>38)</sup>。EGFR 遺伝子異常は日本人の肺腺癌の約40~50% (欧米では~15%) といわれており、また、これらの症例では EGFR-TKI の奏効率は70~80%にのぼるといわれている。一方、まれなエクソン20の挿入変異は EGFR-TKI に抵抗性症例で確認される。

### A-3 EGFR 検索のための適切な材料採取

IHC および FISH は、通常ホルマリン固定パラフィン包埋材料 (FFPET) があれば検索可能である。では、遺伝子変異を検索するための材料としては何が適切なのであろうか。高品質の DNA, RNA を抽出するためには腫瘍の新鮮材料が最もよいとされている

が、現在は生検、手術の FFPET から、あるいは細胞診材料からも遺伝子変異が検出可能である。ただし、ホルマリンでの固定時間が長くなると、DNA の損傷がおこり、偽陰性となる可能性があるため、固定時間を制限した FFPET あるいは規定の保存液で管理された気管支洗浄液材料がよいと考えられる。

検査方法として従来は変異 DNA を多く必要とするダイレクトシーケンス法が主体であったが、現在ではより高感度な PCR を用いた多数の検索法が考案されている (表3)<sup>29)</sup>。本邦ではコマーシャルラボとして3社ほどで異なった検索法を用いて検索がなされているが、その相関も十分検討され、担保されている。

### B ALK 肺癌

2007年、本邦より EML4-ALK 癒合遺伝子を持つ肺腺癌が報告された<sup>39)</sup>。肺腺癌の約5%程度でこの転座が確認され、臨床的には、若年、非喫煙 (少量の喫煙) との関連が高く、EGFR, KRAS 遺伝子変異など他の遺伝子変異とは相互排他的であることが示された。本癒合遺伝子を持つ腫瘍には、特異的阻害薬であるクリゾチニブ (商品名: ザーコリ) が極めて有効であることが大規模前向き試験で実証され<sup>40)</sup>、本邦では2012年保険収載されるに至った。これほどまでに遺伝子異常の発見から特異的治療薬の開発、臨床応用まで進んでいる薬剤は例をみない<sup>41)</sup>。

### C 他の遺伝子変異と特異的治療の可能性

KRASは20年以上も前に肺の非小細胞癌で変異が確認され、現在白人で20-30%程度の症例で変異がみられ、また、喫煙との関連が深いことが報告されている<sup>42)</sup>。これはEGFR遺伝子変異がアジア人、非喫煙者に多いのに相反する結果で、かつ同時に変異がみられることは極めて少ない<sup>43)</sup>。KRASは、EGFRの細胞質ドメイン近傍にあるGRB2/SOS complexを介して活性化される。活性化KRASは続いてRAF、MEK、MAPK/Erk1/2をリン酸化し、細胞増殖に寄与するといわれている(RAS-MEK-ERK pathway)。現在、KRAS阻害剤を含め、こうした経路を遮断するような分子標的薬が多数開発され検討がなされているが、この下流域での各分子との相関関係は複雑で<sup>44)</sup>、まだ臨床試験段階のものが多い。

そのほかRET肺癌、ROS1肺癌など癒合遺伝子を持つ肺癌の報告が続いている<sup>45)</sup>。またHer2変異肺癌、BRAF変異肺癌、PIK3CA変異肺癌など遺伝子変異を伴う肺癌も特異的TKIの臨床応用が期待されている<sup>46)</sup>。

### D 新組織分類と遺伝子異常

では、新組織分類と遺伝子異常の間にはどのような相関そして意義があるのか。相関に関しては、複数の論文がその報告を行っている<sup>9)14)15)17)21)28)</sup>。我々は、EGFR遺伝子変異はLPAあるいはPPAに出現率が優位に多く、APAやSPAではKRAS遺伝子変異が優位に多いこと<sup>21)</sup>、またmicropapillary patternを伴う肺腺癌は予後不良といわれるもののEGFR遺伝子変異が多くみられ、EGFR-TKIを用いることで予後不良群とはならないこと<sup>17)</sup>、などを示した。その意味でも新組織分類は生物学的にも意味のある分類であることが示されたと考える。

### E 肺腺癌における遺伝子変異および特異的治療における問題点

多数の遺伝子異常の関与が示唆されている肺腺癌であるが、どのくらいの症例が、その特異的治療法で救われているのであろうか。EGFR遺伝子異常例に関しては、前項で示した報告からは華々しい効果が望まれるようにみえるが、残念ながら進行肺癌に限られ、かつ無増悪生存期間の延長が示されたにすぎない。他

にも薬剤耐性の問題や、当初より指摘されている肺傷害など副作用の問題もある。いくらその対象症例が多いとはいえ、遺伝子異常に関連した一連の特異的治療は始まったばかりと考えたほうがいいかもしれない。

現在保険適応となっているCDxは肺癌では、EGFRとALKの2種である。一つの問題点は、それぞれの検査が非常に高価であり、基本的には一生に1回の検査しか認められていない点である。現行EGFRの遺伝子変異の検索に2,100点、ALKの免疫染色に400点(他の免疫染色と同じ加算)、同FISHに6,520点が計上されている。肺腺癌の組織学的診断がついてから、両検索の終了まで(ALKは基本的にはEGFRの陰性例にのみ適応)10万円近い検査費用がかかる計算になる。前述するような個別化医療が進んでいくと、この2種にとどまらず、遺伝子検査のみでどの程度の費用がかかるか予測がつかない。また、検索時間も問題である。この2種の遺伝子異常を検索するだけで、通常3週間近くの時間を要する。将来的には多くの遺伝子検索を同時に行う方法(multiplex PCR)が開発されるものと予想されるが、それが認証されるまではまだ時間を要する。

先日、ある呼吸器内科医から肺の生検が提出された。その依頼書には、「腺癌であった場合でも、EGFRやALKの検索は不要です」とあった。その内科医に問い合わせると、患者から「検査だけにそこまで費用がだせないし、ましてや治療にそんなにお金がかかるなんて」と申し出があったそうである。我々病理医は直接患者に接する機会ほとんどないが、格差社会が叫ばれる昨今、コスト意識も十分もち、診断に望みたいと考えている。

## IV 最後

肺腺癌における新組織分類およびその意義、そして個別化治療に関する遺伝子異常およびその検査法について概説した。診断病理医としては、肺癌制圧のため、組織像のみならず総合的かつ有意義な情報を提供していきたいと考えている。特に今後CDxによる判定法(診断)に接する機会が増えてくるとは思うが、適切な精度管理のもと診断を行っていきたい。



文 献

- 1) Travis W, Brambilla E, Muller-Hermelink H, Harris C : Pathology and Genetics : Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart. IARC Press, Lyon, 2004
- 2) 日本肺癌学会 : 臨床・病理 肺癌取扱い規約, vol.第7版. 金原出版, 東京, 2010
- 3) Noguchi M, Morikawa A, Kawasaki M, Matsuno Y, Yamada T, Hirohashi S, Kondo H, Shimosato Y : Small adenocarcinoma of the lung. Histologic characteristics and prognosis. *Cancer* 75 : 2844-2852, 1995
- 4) Zell JA, Ou SH, Ziogas A, Anton-Culver H : Epidemiology of bronchioloalveolar carcinoma : improvement in survival after release of the 1999 WHO classification of lung tumors. *J Clin Oncol* 23 : 8396-8405, 2005
- 5) Suzuki K, Yokose T, Yoshida J, Nishimura M, Takahashi K, Nagai K, Nishiwaki Y : Prognostic significance of the size of central fibrosis in peripheral adenocarcinoma of the lung. *Ann Thorac Surg* 69 : 893-897, 2000
- 6) Terasaki H, Niki T, Matsuno Y, Yamada T, Maeshima A, Asamura H, Hayabuchi N, Hirohashi S : Lung adenocarcinoma with mixed bronchioloalveolar and invasive components : clinicopathological features, subclassification by extent of invasive foci, and immunohistochemical characterization. *Am J Surg Pathol* 27 : 937-951, 2003
- 7) Sakurai H, Maeshima A, Watanabe S, Suzuki K, Tsuchiya R, Maeshima AM, Matsuno Y, Asamura H : Grade of stromal invasion in small adenocarcinoma of the lung : histopathological minimal invasion and prognosis. *Am J Surg Pathol* 28 : 198-206, 2004
- 8) Aida S, Shimazaki H, Sato K, Sato M, Deguchi H, Ozeki Y, Tamai S : Prognostic analysis of pulmonary adenocarcinoma subclassification with special consideration of papillary and bronchioloalveolar types. *Histopathology* 45 : 468-476, 2004
- 9) Motoi N, Szoke J, Riely GJ, Seshan VE, Kris MG, Rusch VW, Gerald WL, Travis WD : Lung adenocarcinoma : modification of the 2004 WHO mixed subtype to include the major histologic subtype suggests correlations between papillary and micropapillary adenocarcinoma subtypes, EGFR mutations and gene expression analysis. *Am J Surg Pathol* 32 : 810-827, 2008
- 10) Yoshizawa A, Motoi N, Riely GJ, Sima CS, Gerald WL, Kris MG, Park BJ, Rusch VW, Travis WD : Impact of proposed IASLC/ATS/ERS classification of lung adenocarcinoma : prognostic subgroups and implications for further revision of staging based on analysis of 514 stage I cases. *Mod Pathol* 24 : 653-664, 2011
- 11) Amin MB, Tamboli P, Merchant SH, Ordonez NG, Ro J, Ayala AG, Ro JY : Micropapillary component in lung adenocarcinoma : a distinctive histologic feature with possible prognostic significance. *Am J Surg Pathol* 26 : 358-364, 2002
- 12) Miyoshi T, Satoh Y, Okumura S, Nakagawa K, Shirakusa T, Tsuchiya E, Ishikawa Y : Early-stage lung adenocarcinomas with a micropapillary pattern, a distinct pathologic marker for a significantly poor prognosis. *Am J Surg Pathol* 27 : 101-109, 2003
- 13) Tsutsumida H, Nomoto M, Goto M, Kitajima S, Kubota I, Hirotsu Y, Wakimoto J, Hollingsworth MA, Yonezawa S : A micropapillary pattern is predictive of a poor prognosis in lung adenocarcinoma, and reduced surfactant apoprotein A expression in the micropapillary pattern is an excellent indicator of a poor prognosis. *Mod Pathol* 20 : 638-647, 2007
- 14) 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 : 235-240, 2009
- 15) 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* 6 : 244-285, 2011
- 16) Sica G, Yoshizawa A, Sima CS, Azzoli CG, Downey RJ, Rusch VW, Travis WD, Moreira AL: A grading system of lung adenocarcinomas based on histologic pattern is predictive of disease recurrence in stage I tumors. *Am J Surg Pathol* 34 : 1155-1162, 2010
- 17) Sumiyoshi S, Yoshizawa A, Sonobe M, Kobayashi M, Fujimoto M, Tsuruyama T, Date H, Haga H: Pulmonary adenocarcinomas with micropapillary component significantly correlate with recurrence, but can be well controlled with EGFR tyrosine kinase inhibitors in the early stages. *Lung Cancer* 81 : 53-59, 2013
- 18) Russell PA, Wainer Z, Wright GM, Daniels M, Conron M, Williams RA: Does lung adenocarcinoma subtype predict patient survival? : A clinicopathologic study based on the new International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society international multidisciplinary lung adenocarcinoma classification. *J Thorac Oncol* 6 : 1496-1504, 2011
- 19) Warth A, Muley T, Meister M, Stenzinger A, Thomas M, Schirmacher P, Schnabel PA, Budczies J, Hoffmann H, Weichert W: The novel histologic international association for the study of lung cancer/american thoracic society/european respiratory society classification system of lung adenocarcinoma is a stage-independent predictor of survival. *J Clin Oncol* 30 : 1438-1446, 2012
- 20) Xu L, Tavora F, Battafarano R, Burke A: Adenocarcinomas with prominent lepidic spread : retrospective review applying new classification of the American Thoracic Society. *Am J Surg Pathol* 36 : 273-282, 2012
- 21) Yoshizawa A, Sumiyoshi S, Sonobe M, Kobayashi M, Fujimoto M, Kawakami F, Tsuruyama T, Travis WD, Date H, Haga H: Validation of the IASLC/ATS/ERS lung adenocarcinoma classification for prognosis and association with EGFR and KRAS gene mutations : analysis of 440 Japanese patients. *J Thorac Oncol* 8 : 52-61, 2013
- 22) Thunnissen E, Beasley MB, Borczuk AC, Brambilla E, Chirieac LR, Dacic S, Flieder D, Gazdar A, Geisinger K, Hasleton P, Ishikawa Y, Kerr KM, Lantejoul S, Matsuno Y, Minami Y, Moreira AL, Motoi N, Nicholson AG, Noguchi M, Nonaka D, Pelosi G, Petersen I, Rekhtman N, Roggli V, Travis WD, Tsao MS, Wistuba I, Xu H, Yatabe Y, Zakowski M, Witte B, Kuik DJ: Reproducibility of histopathological subtypes and invasion in pulmonary adenocarcinoma. An international interobserver study. *Mod Pathol* 25 : 1574-1583, 2012
- 23) Warth A, Cortis J, Fink L, Fisseler-Eckhoff A, Geddert H, Hager T, Junker K, Kayser G, Kitz J, Langer F, Morresi-Hauf A, Ott G, Petersen I, Stenzinger A, Soltermann A, Ting S, Tischler V, Vollmer E, Schnabel PA, Weichert W: Training increases concordance in classifying pulmonary adenocarcinomas according to the novel IASLC/ATS/ERS classification. *Virchows Arch* 461 : 185-193, 2012
- 24) Nakazato Y, Minami Y, Kobayashi H, Satomi K, Anami Y, Tsuta K, Tanaka R, Okada M, Goya T, Noguchi M: Nuclear grading of primary pulmonary adenocarcinomas : correlation between nuclear size and prognosis. *Cancer* 116 : 2011-2019, 2010
- 25) Nakazato Y, Maeshima AM, Ishikawa Y, Yatabe Y, Fukuoka J, Yokose T, Tomita Y, Minami Y, Asamura H, Tachibana K, Goya T, Noguchi M: Interobserver agreement in the nuclear grading of primary pulmonary adenocarcinoma. *J Thorac Oncol* 8 : 736-743, 2013
- 26) Lakhani SR, Ellis IO, Schnitt SJ, Tan PH, Vijiver MJvd: WHO Classification of Tumours of the Breast. IARC Press, Lyon, 2012
- 27) Sobin LH, Gospodarowicz MK, Wittekind C: TNM Classification of Malignant Tumours Seventh edition, Seventh ed. John Wiley & Sons, New York, 2009
- 28) Ding L, Getz G, Wheeler DA, Mardis ER, McLellan MD, Cibulskis K, Sougnez C, Greulich H, Muzny DM, Morgan

- MB, Fulton L, Fulton RS, Zhang Q, Wendl MC, Lawrence MS, Larson DE, Chen K, Dooling DJ, Sabo A, Hawes AC, Shen H, Jhangiani SN, Lewis LR, Hall O, Zhu Y, Mathew T, Ren Y, Yao J, Scherer SE, Clerc K, Metcalf GA, Ng B, Milosavljevic A, Gonzalez-Garay ML, Osborne JR, Meyer R, Shi X, Tang Y, Koboldt DC, Lin L, Abbott R, Miner TL, Pohl C, Fewell G, Haipok C, Schmidt H, Dunford-Shore BH, Kraja A, Crosby SD, Sawyer CS, Vickery T, Sander S, Robinson J, Winckler W, Baldwin J, Chirieac LR, Dutt A, Fennell T, Hanna M, Johnson BE, Onofrio RC, Thomas RK, Tonon G, Weir BA, Zhao X, Ziaugra L, Zody MC, Giordano T, Orringer MB, Roth JA, Spitz MR, Wistuba II, Ozenberger B, Good PJ, Chang AC, Beer DG, Watson MA, Ladanyi M, Broderick S, Yoshizawa A, Travis WD, Pao W, Province MA, Weinstock GM, Varmus HE, Gabriel SB, Lander ES, Gibbs RA, Meyerson M, Wilson RK : Somatic mutations affect key pathways in lung adenocarcinoma. *Nature* 455 : 1069-1075, 2008
- 29) 光富徹哉, 谷田部恭, 萩原弘一, 弦間昭彦, 西尾和人, 秋田弘俊, 中川和彦 : 肺癌患者における EGFR 遺伝子変異検査の解説. 金原出版, 東京, 2009
- 30) Paez JG, Janne PA, Lee JC, Tracy S, Greulich H, Gabriel S, Herman P, Kaye FJ, Lindeman N, Boggon TJ, Naoki K, Sasaki H, Fujii Y, Eck MJ, Sellers WR, Johnson BE, Meyerson M : EGFR mutations in lung cancer : correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science* 304 : 1497-1500, 2004
- 31) Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, Gurubhagavatula S, Okimoto RA, Brannigan BW, Harris PL, Haserlat SM, Supko JG, Haluska FG, Louis DN, Christiani DC, Settleman J, Haber DA : Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med* 350 : 2129-2139, 2004
- 32) 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* 361 : 947-957, 2009
- 33) Rosell R, Moran T, Queralt C, Porta R, Cardenal F, Camps C, Majem M, Lopez-Vivanco G, Isla D, Provencio M, Insa A, Massuti B, Gonzalez-Larriba JL, Paz-Ares L, Bover I, Garcia-Campelo R, Moreno MA, Catot S, Rolfo C, Reguart N, Palmero R, Sanchez JM, Bastus R, Mayo C, Bertran-Alamillo J, Molina MA, Sanchez JJ, Taron M : Screening for epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *N Engl J Med* 361 : 958-967, 2009
- 34) Maemondo M, Inoue A, Kobayashi K, Sugawara S, Oizumi S, Isobe H, Gemma A, Harada M, Yoshizawa H, Kinoshita I, Fujita Y, Okinaga S, Hirano H, Yoshimori K, Harada T, Ogura T, Ando M, Miyazawa H, Tanaka T, Saijo Y, Hagiwara K, Morita S, Nukiwa T : Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR. *N Engl J Med* 362 : 2380-2388, 2010
- 35) Hirsch FR, Varella-Garcia M, Bunn PA Jr, Franklin WA, Dziadziuszko R, Thatcher N, Chang A, Parikh P, Pereira JR, Ciuleanu T, von Pawel J, Watkins C, Flannery A, Ellison G, Donald E, Knight L, Parums D, Botwood N, Holloway B : Molecular predictors of outcome with gefitinib in a phase III placebo-controlled study in advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 24 : 5034-5042, 2006
- 36) Cappuzzo F, Hirsch FR, Rossi E, Bartolini S, Ceresoli GL, Bemis L, Haney J, Witta S, Danenberg K, Domenichini I, Ludovini V, Magrini E, Gregorc V, Doglioni C, Sidoni A, Tonato M, Franklin WA, Crino L, Bunn PA Jr, Varella-Garcia M : Epidermal growth factor receptor gene and protein and gefitinib sensitivity in non-small-cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst* 97 : 643-655, 2005
- 37) Tsao MS, Sakurada A, Cutz JC, Zhu CQ, Kamel-Reid S, Squire J, Lorimer I, Zhang T, Liu N, Daneshmand M, Marrano P, da Cunha Santos G, Lagarde A, Richardson F, Seymour L, Whitehead M, Ding K, Pater J, Shepherd FA : Erlotinib in lung cancer-molecular and clinical predictors of outcome. *N Engl J Med* 353 : 133-144, 2005
- 38) Mitsudomi T, Yatabe Y : Mutations of the epidermal growth factor receptor gene and related genes as determinants of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors sensitivity in lung cancer. *Cancer Sci* 98 : 1817-1824, 2007
- 39) Soda M, Choi YL, Enomoto M, Takada S, Yamashita Y, Ishikawa S, Fujiwara S, Watanabe H, Kurashina K,



- Hatanaka H, Bando M, Ohno S, Ishikawa Y, Aburatani H, Niki T, Sohara Y, Sugiyama Y, Mano H : Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature* 448 : 561-566, 2007
- 40) Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR, Shaw AT, Solomon B, Maki RG, Ou SH, Dezube BJ, Janne PA, Costa DB, Varella-Garcia M, Kim WH, Lynch TJ, Fidias P, Stubbs H, Engelman JA, Sequist LV, Tan W, Gandhi L, Minonkenudson M, Wei GC, Shreeve SM, Ratain MJ, Settleman J, Christensen JG, Haber DA, Wilner K, Salgia R, Shapiro GI, Clark JW, Iafrate AJ : Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 363 : 1693-1703, 2010
- 41) 吉澤明彦 : ALK 癒合遺伝子肺癌. *信州医誌* 59 : 381-382, 2011
- 42) Shigematsu H, Gazdar AF : Somatic mutations of epidermal growth factor receptor signaling pathway in lung cancers. *Int J Cancer* 118 : 257-262, 2006
- 43) Kosaka T, Yatabe Y, Endoh H, Kuwano H, Takahashi T, Mitsudomi T : Mutations of the epidermal growth factor receptor gene in lung cancer : biological and clinical implications. *Cancer Res* 64 : 8919-8923, 2004
- 44) Yoshizawa A, Fukuoka J, Shimizu S, Shilo K, Franks TJ, Hewitt SM, Fujii T, Cordon-Cardo C, Jen J, Travis WD : Overexpression of phospho-eIF4E is associated with survival through AKT pathway in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 16 : 240-248, 2010
- 45) Takeuchi K, Soda M, Togashi Y, Suzuki R, Sakata S, Hatano S, Asaka R, Hamanaka W, Ninomiya H, Uehara H, Lim Choi Y, Satoh Y, Okumura S, Nakagawa K, Mano H, Ishikawa Y : RET, ROS1 and ALK fusions in lung cancer. *Nat Med* 18 : 378-381, 2012
- 46) Oxnard GR, Binder A, Janne PA : New targetable oncogenes in non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 31 : 1097-1104, 2013

(H 25. 12. 4 受稿)