

## 9. 気管支鏡検査による呼吸器疾患へのアプローチ

### 肺癌と遺伝子診断 (II)

野呂林太郎 清家 正博 弦間 昭彦

日本医科大学大学院医学研究科呼吸器感染腫瘍内科学

#### 9. Approach to Respiratory Disease with Bronchofiberscopy

##### Lung Cancer and Genetic Diagnosis

Rintaro Noro, Masahiro Seike and Akihiko Genma

Department of Internal Medicine, Division of Pulmonary Medicine, Infection and Oncology, Graduate School of Medicine, Nippon Medical School

#### 遺伝子診断における肺癌個別化治療

昨今の著しい分子生物学の進歩により、肺癌個別化治療が実現した。

2004年、*Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR)* 遺伝子変異を有する肺癌はEGFRチロシンキナーゼインヒビター (EGFR-TKI) に薬剤感受性を有することが報告された。その後のEGFR-TKIとプラチナ併用化学療法との第III相比較試験において、初期治療におけるEGFR-TKIの有用性が認められ、EGFR遺伝子変異の有無に基づいた治療が推奨される方向で、進行非小細胞肺癌 (NSCLC) の診療ガイドラインが改定になった。

EGFR遺伝子変異肺癌におけるEGFR-TKIの奏効率は約80%である。しかし、図1のように著しく癌の縮小を認めた症例でも10~14カ月ほどで耐性化し腫瘍の再燃を来す。その耐性化のメカニズムとしてEGFR遺伝子2次変異 (T790M変異) やMET遺伝子増幅の関与が考えられている。耐性化確認のための再検査 (re-biopsy) のニーズは高いが、合併症のリスクや患者の苦痛を考えると、治療前に耐性化を予測することが求められる。

2007年、日本人NSCLCの約5%に*anaplastic lymphoma kinase (ALK)* 融合遺伝子が認められることが報告された。このALK融合遺伝子同定のための検査手法も確立されつつあり、これらを有する症例はALK阻害薬に著効することが報告されている。海外では2011年にFDA (米国食品医薬局) に承認されており、本邦での承認が待たれるところである。

MET遺伝子増幅によるEGFR-TKIの耐性化を来す症例では、投与前にMET遺伝子増幅を有するpopulationがあらかじめ存在していることが報告されている。このことから、治療前にfluorescence *in situ* hybridization (FISH) を用いて、MET遺伝子増幅やコピー数を調べることはEGFR-TKIの耐性化予測につながることを期待されている。またMET阻害薬はMET遺伝子増幅症例に対して有用であるという報告がなされており、EGFR-TKI耐性化の克服への臨床応用が期待されている。

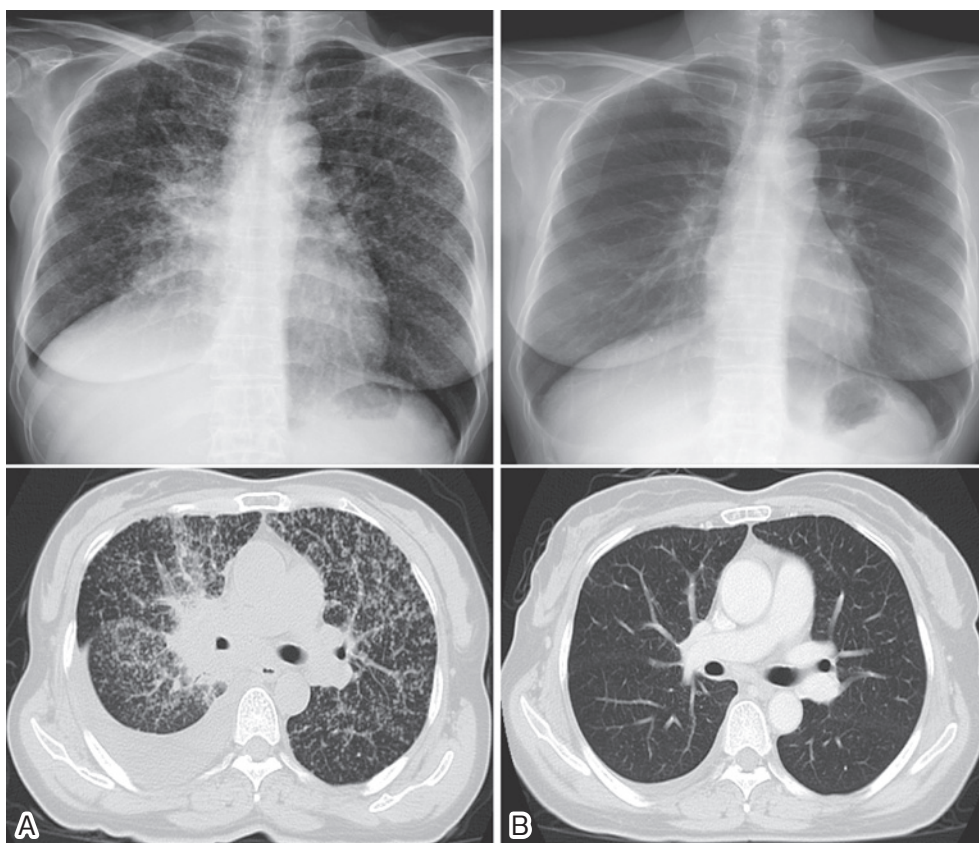


図1 (A) EGFR チロシンキナーゼインヒビター 治療前 (胸部単純レントゲン画像およびCT画像) (B) EGFR チロシンキナーゼインヒビター 治療後三カ月目 (胸部単純レントゲン画像およびCT画像)  
EGFR チロシンキナーゼインヒビター 投与により, 無数の肺内転移病巣および胸水が消失している。

#### 気管支鏡検体を使った遺伝子診断

これらの標的因子の検索には, 手術検体や胸水検体に加え, 肺癌の確定診断時における気管支鏡検査検体を利用した検索が可能である。気管支鏡検査による経気管支肺生検, 気管支洗浄液および超音波ガイド下リンパ節生検 (EBUS-TBNA) により検体を採取する。

まず, 採取した検体は病理検査用に一部分け, 肺癌の確定診断を行う。それ以外の検体はEGFR 遺伝子検査およびMET 遺伝子検査用の2つに分注し, 研究室内に保管する (図2)。肺癌細胞が確認された段階で (図3), ストックされている採取検体またはパラフィン標本より, PNA-LNA PCR clamp 法にてEGFR 遺伝子変異を検索する。この手法では正常細胞100~1,000個に対して1個の遺伝子異常のある細胞を検出することが可能である。また耐性変異であるT790Mも検出可能である。ALK融合型癌遺伝子は, パラフィン包埋切片を用いての免疫染色法およびFISH法により検出可能である。MET 遺伝子解析に関しては, パラフィン包埋切片や保管されている気管支洗浄液を用いてFISH法によるMET 遺伝子増幅やコピー数を検出する (図4)。

EGFR-TKIに加え, CrizotinibやMET阻害薬など新しい分子標的薬の開発に伴い, 図3のシステムのような個別化治療のアルゴリズムを想定することができる。治療前の検体からMET 遺伝子増幅やコピー数を解析することによりEGFR-TKIの耐性化の予測も将来的に可能になるかもしれない。

このように1回の気管支鏡検査で得られた検体から複数の薬剤感受性マーカーの検出を行うことで, 個別化治療への道が広がってくると思われる。

気管支鏡検査(経気管支肺生検、擦過細胞診、気管支洗浄、超音波ガイド下リンパ節生検)

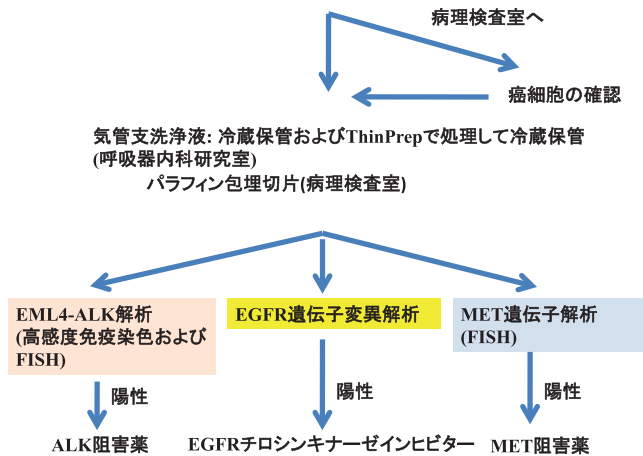


図2 肺癌個別化治療のアルゴリズム

病理診断が確定した段階で、EGFR 遺伝子変異、ALK 融合型癌遺伝子およびMET 遺伝子増幅の解析を進める。将来的には個々の分子標的薬の適応が決定されるであろう。

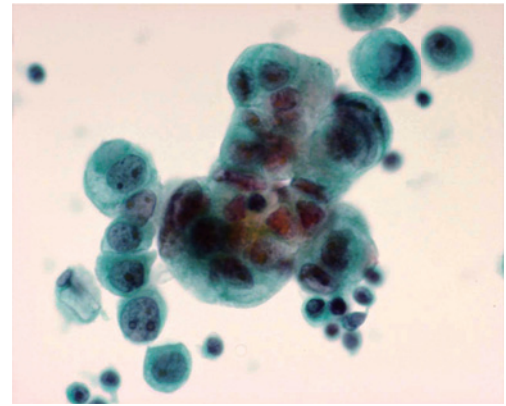


図3 細胞診  
細胞質は泡沫状で、ライトグリーンに淡染した重積性を示す肺腺癌細胞を認める。

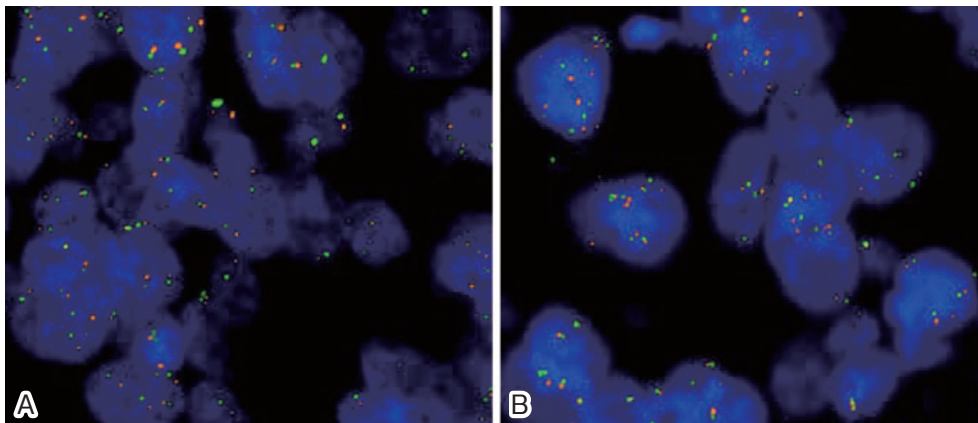


図4 MET 遺伝子の FISH 画像

(A) Low copy number

(B) High copy number

(Genetic Lab 社より提供)

red : MET 遺伝子プローブ

green : CEP7 プローブ

FISH positive : High copy number : red signal  $\geq 4$  および Amplification : red signal/green signal  $\geq 2$ .