

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 10 日現在

機関番号：34419

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2014～2015

課題番号：26893310

研究課題名(和文) すりガラス様陰影を呈する肺癌とその前癌病変の遺伝子学的特徴：増大の有無による違い

研究課題名(英文) Genetic features of pulmonary adenocarcinoma presenting with ground-glass nodules: the differences between nodules with and without growth

研究代表者

小林 祥久 (KOBAYASHI, Yoshihisa)

近畿大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：30734628

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：すりガラス様陰影(GGN)は、肺癌や良性疾患など広く含む。我々は、GGNには増大するものとし、ないものがあり喫煙者の長径の大きなものは増大しやすいことを明らかにしたが、遺伝子的な違いは不明であった。

本研究では切除された104例のGGNについてEGFR、KRAS、ALK、HER2遺伝子の解析を網羅的に行い増大の有無との関連を解析した。遺伝子変異無しは増大無しと関連していた一方で、EGFR変異陽性は増大と関連していた。EGFR陽性のGGNは将来増大しやすいため注意深い経過観察や切除が必要となるが遺伝子変異のないGGNは切除しなくて良いことが示唆され、適切な経過観察アルゴリズム構築に有用である。

研究成果の概要(英文)：Pulmonary ground-glass nodules (GGNs) include both malignant and benign lesions. Some GGNs become larger, whereas others remain unchanged for years. We have previously reported that smoking history and large diameters are predictors for growth. However, the genetic differences among GGNs remain unclear.

In this study we comprehensively investigate the genetic features of 104 GGNs in terms of targetable or potentially targetable driver mutations including EGFR, KRAS, ALK, and HER2. "Incidence of 2-mm growth" and "Time to 2-mm growth" were analyzed according to the mutational status. Three-fourths of resected GGNs were positive for EGFR, KRAS, ALK, or HER2 mutations. Quadruple-negative tumors were associated with GGNs with no growth, whereas EGFR mutation-positive tumors were correlated with growth. These results provide insight into the genetic features of GGNs and help establish reasonable follow-up algorithms to reduce radiation exposure and avoid unnecessary surgeries.

研究分野：呼吸器外科

キーワード：すりガラス様陰影 ground glass nodule ground glass opacity 肺癌 EGFR CT

1. 研究開始当初の背景

(1) GGN は、気管支や脈管が透見できる程度の淡い CT 所見であり、良性と悪性 (肺癌とその前癌病変) が含まれる。2011 年の肺腺癌の新分類における前癌病変 (異型腺腫様過形成 AAH と上皮内腺癌 AIS) は一般的に GGN 成分が 100% である pure GGN を呈し、微小浸潤性腺癌 MIA や浸潤性腺癌 IA は充実成分も混在する part solid GGN や充実結節影を呈する。

(2) 我々は GGN の自然史について検討し、徐々に増大する群と数年間変化しない群に大別されること、さらにその増大の有無の見極めには少なくとも 3 年間のフォローアップが必要であることを報告した (Kobayashi et al. Journal of Thoracic Oncology (2013) 8(3): 309-314)。他の複数の報告も合わせると pure GGN の 2 割、part solid GGN の 4 割が増大することがわかった (Kobayashi et al. Translational Lung Cancer Research (2013) 2(5): 354-363)。それゆえ、全ての GGN を切除すべきかどうかは不明であり、少なくとも変化しないものは切除しなくて良いと考えられる。

(3) これまでに腫瘍径が大きいことと喫煙が増大予測因子であることを見出したが (Kobayashi et al. Lung Cancer (2014) 83(1): 61-66)、増大するものと変化しないものの根本的な違いは依然不明であり、この解明はより適切なマネージメント法の構築に必要不可欠である。

2. 研究の目的

本研究は、GGN の遺伝子学的特徴を解明し、さらに増大の有無との関連を統計的に解析することで実臨床での経過観察アルゴリズム構築への基盤を作ることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 対象症例の臨床的・画像的特徴
外科的に切除された GGN (すりガラス成分を 50% 以上含む) を対象とした。スライス厚 2mm 以下の高分解能 CT による経過観察期間を後方視的に記録した。2mm 以上の増大または充実成分の 2mm 以上の増加を「増大」と定義し、増大の有無を記録した。臨床背景、腺癌新分類にもとづく組織型 (異型腺腫様過形成 AAH, 上皮内腺癌 AIS, 微小浸潤性腺癌 MIA, 浸潤性腺癌 IA) の情報を集積した。

(2) 遺伝子解析

EGFR

パラフィン切片より DNA を抽出し、codon858 を cycleave 法で点突然変異を解析、exon19, 20 は fragment 解析によりそれぞれ遺伝子欠失、挿入を検討した。検体によっては RNA を抽出し、RT-PCR で増幅した後 direct sequence で遺伝子変異を検索した。

KRAS

パラフィン切片より DNA を抽出し、codon12 を cycleave 法で点突然変異を解析する。RNA を抽出し、RT-PCR で増幅した。direct sequence で遺伝子変異を検索 (codon12, 13, 61) した。

ALK 免疫染色、FISH、RT-PCR のいずれかで評価した。

HER2 exon20 の fragment 解析により遺伝子挿入を検討した。

(3) 統計解析

遺伝子変異と増大の有無についてカイ二乗検定で比較した。また、増大するまでの期間についてカップライマイヤー法で増大予測率曲線を書き、遺伝子変異による差をログランク検定で比較した。

4. 研究成果

(1) 対象症例の画像所見

原発性肺癌に対して切除された病変のうち、CT 画像上 GGN 成分を 50% 以上含むものを 104 例集積した。病理組織学的には全例が肺癌またはその前癌病変であった。経過観察中の増大の有無については、高解像度 CT 検査を 2mm 以下のスライスで術前に少なくとも 2 回以上施行された 71 病変を評価対象とした。この中で増大傾向を示したものは 30 例、2 年以上変化しなかったものは 5 例であった。

(2) 遺伝子解析結果

EGFR、KRAS、ALK、HER2 遺伝子の解析を行ったところ、全体の 75% でいずれかの遺伝子変異がみられた。それぞれの陽性率は EGFR64%、KRAS4%、ALK3%、HER2 4% であり、残りの 25% は 4 つとも陰性であった (図 1)。

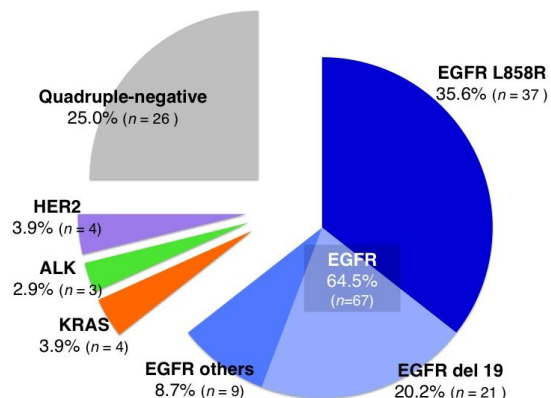


図 1 104 個の GGN の遺伝子解析結果

(3) 遺伝子変異と増大の有無の関連性

まずは増大傾向を示した 30 例と 2 年以上変化しなかった 5 例を対象に、「増大イベントの有無」を解析したところ、4 つとも変異陰性の群は、いずれかの変異陽性の群よりも「増大なし」と関連していた ($P < 0.01$) (図 2)。

また、変異陽性群のうち最多を占める EGFR について解析すると、EGFR 陽性群は EGFR 陰性群よりも「増大あり」と関連していた ($P < 0.01$) (図 2)。

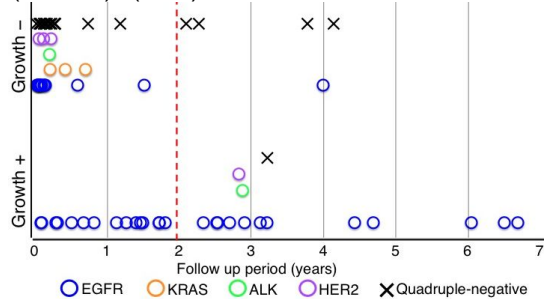


図 2 増大の有無と遺伝子変異の関連性

次に、増大するまでの期間について比較したところ、やはり 4 つとも変異陰性の群は「増大なし」と、EGFR 陽性は「増大あり」とそれぞれ関連しており、2 つの解析で一貫した結果であった (図 3)。

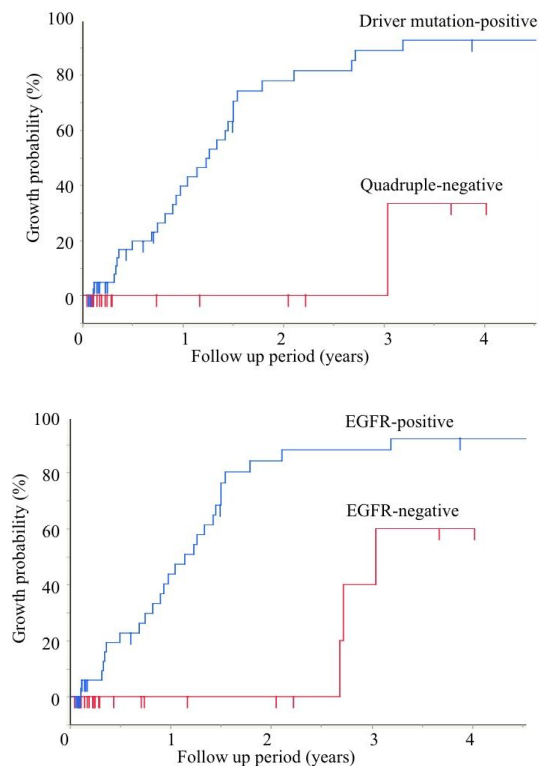


図 3 増大までの期間と遺伝子変異の関連性

(4)まとめ

EGFR 陽性の GGN は将来増大しやすいため注意深い経過観察や切除が必要となるが、遺伝子変異のない GGN は切除しなくて良いことが示唆された。実臨床に応用するには非侵襲的に遺伝子変異の検査を行えるようになることが必要であるが、本研究による増大の有無と遺伝子変異の関連は、経過観察のアルゴリズム構築に有用な根拠となる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 5 件)

Kobayashi Y, Mitsudomi T, Sakao Y, Yatabe Y. Genetic features of pulmonary adenocarcinoma presenting with ground-glass nodules: the differences between nodules with and without growth. *Annals of Oncology* (2015) 26: 156-161. doi:10.1093/annonc/mdl505、査読有り

Kobayashi Y, Togashi Y, Yatabe Y, Mizuuchi H, Park J, Kondo C, Shimoji M, Sato K, Suda K, Tomizawa K, Takemoto T, Hida T, Nishio K, and Mitsudomi T. EGFR exon 18 mutations in lung cancer: molecular predictors of augmented sensitivity to afatinib or neratinib as compared with first or third generation TKIs. *Clinical Cancer Research* (2015) 21: 5305-5313. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-15-1046、査読有り

小林祥久、光富徹哉: EGFR 遺伝子変異と阻害薬: さらなる個別化治療への展望. *最新医学*, 2015 年、70 巻、2461-2468. 査読無し

小林祥久、光富徹哉: EGFR-TKI 耐性とその克服. *臨床と研究*, 2015 年、92 巻、892-895. 査読無し

小林祥久、光富徹哉: EGFR 変異と特異的阻害剤. *Pharma Medica*, 2014 年、32 巻、15-19. 査読無し

〔学会発表〕(計 5 件)

小林祥久、光富徹哉: 肺腺癌の driver mutation と画像所見: GGN のユニークな遺伝子的特徴. 第 56 回日本肺癌学会学術集会、2015 年 11 月 26 日、パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市)

小林祥久、光富徹哉: EGFR 遺伝子変異の種類による治療の最適化と外科切除の役割. 第 68 回日本胸部外科学会定期学術集会、2015 年 10 月 19 日、神戸ポートピアホテル(兵庫県・神戸市)

Kobayashi Y, Togashi Y, Yatabe Y, Mizuuchi H, Park J, Kondo C, Shimoji M, Sato K, Suda K, Tomizawa K, Takemoto T, Hida T, Nishio K, and Mitsudomi T. EGFR Exon 18 Mutations in Lung Cancer: Molecular Predictors of Sensitivity to Afatinib or Neratinib but Not to Other EGFR-TKIs. 16th World

Conference on Lung Cancer Conference、
2015年9月7日、Colorado convention
center、Denver (USA)

小林祥久、光富徹哉、水野鉄也、黒田浩
章、坂倉範昭、下治正樹、水内寛、佐藤
克明、須田健一、富沢健二、武本智樹、
岩崎拓也、阪口全宏、坂尾幸則、谷田部
恭. すりガラス陰影 (GGO) を呈する肺腺
癌の遺伝子的特徴: 増大する病変と変化
しない病変の違い. 第55回日本肺癌学
会学術集会、2014年11月14日、国立
京都国際会館(京都府・京都市)

小林祥久、光富徹哉、坂尾幸則、谷田部
恭. スリガラス様陰影 (GGO) を呈する肺
腺癌の遺伝子的特徴; 増大する GGO と
変化しないGGOの違い. 第9回肺癌分子
病態研究会、2014年9月13日、TKP 東
京駅前カンファレンスセンター(東京都
中央区)

〔図書〕(計 1 件)

小林祥久、光富徹哉: 海外における標準
治療にかかわる大規模無作為化比較試験
の意味と問題点(IPASS ,OPTIMAL ,EURTAC ,
LUX-lung 3). オンコロジークリニカル
ガイド肺癌化学療法、2014年、南山堂
279-288. 査読無し

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小林 祥久 (KOBAYASHI, Yoshihisa)
近畿大学・医学部附属病院・助教

研究者番号: 30734628

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: