

平成 21 年 4 月 1 日現在

|           |   |
|-----------|---|
| 研究種目：     | 基盤研究(C)   |
| 研究期間：     | 2007～2008   |
| 課題番号：     | 19590379  |
| 研究課題名(和文) | 肺腺癌の初期進展課程における EGFR、KRAS 遺伝子変異の検討   |
| 研究課題名(英文) | Analysis of EGFR and KRAS gene mutation in the early developmental phase of lung adenocarcinoma |
| 研究代表者     |   |
|           | 谷田部 恭 (YATABE, Yasushi)   |
|           | 愛知県がんセンター(研究所)・分子腫瘍学部・研究員   |
|           | 研究者番号： 90280809   |

## 研究成果の概要：

多くの腫瘍は、前癌病変→上皮内癌→微小浸潤癌→浸潤癌と多段階の発癌過程を経ると考えられている。肺腺癌も同様であり、前癌病変に相当する病変として、異型腺腫様過形成があげられる。異型腺腫様過形成は偶発的に見出されることがほとんどで、遺伝子検索が容易に行える凍結組織が得られることはほとんどない。また、5mm 以下の小さな病変であることから、遺伝子変異の検討が進んでいないのが現状である。そこで、本研究に先だって現在解析可能なサンプルを用いて、簡便に遺伝子変異の検討を可能にする系を確立した(J Mol Diagn 2006)。この方法を用いて、肺腺癌における前癌病変についての遺伝子変異解析を包括的に行った。これまでの報告でも類を見ない多数例となる異型腺腫様過形成 50 例、上皮内癌 50 例、早期浸潤癌 30 例についての解析を行った。その結果、それぞれの段階の腫瘍間を比較すると、異型腺腫様過形成では KRAS の頻度が有意に高く、上皮内癌には EGFR 遺伝子変異が高い傾向があることが判明した。すでに報告しているように(J Pathol 2004)、浸潤癌では KRAS 遺伝子変異頻度が低いことから、異型腺腫様過形成が浸潤癌に進展すると考えると矛盾が生じる。そこで2つの知見を説明するには次の仮説が導き出された。すなわち、KRAS 遺伝子変異を有する異型腺腫様過形成はもはやそれ以上進展しない病変である可能性である。また、異型腺腫様過形成という病変は同じであっても、EGFR 遺伝子変異を有する場合は上皮内癌から、さらには浸潤癌と浸潤する可能性が示唆された。これらの結果は、遺伝子改変マウスを用いた実験系の結果とよく一致する。また、この結果を用いて、現在臨床上問題となっている孤立性すりガラス様陰影の治療方針決定について遺伝子検査を導入することによってその判断の目安となる可能性が示唆された。

## 交付額

(金額単位：円)

|         | 直接経費      | 間接経費      | 合計        |
|---------|-----------|-----------|-----------|
| 2007 年度 | 2,600,000 | 780,000   | 3,380,000 |
| 2008 年度 | 1,000,000 | 300,000   | 1,300,000 |
| 年度      |           |           |           |
| 年度      |           |           |           |
| 年度      |           |           |           |
| 総計      | 3,600,000 | 1,080,000 | 4,680,000 |

研究分野： 医歯薬学  
科研費の分科・細目： 基礎医学・人体病理学  
キーワード： 呼吸器

### 1. 研究開始当初の背景

多くの腫瘍は、前癌病変→上皮内癌→微小浸潤癌→浸潤癌と多段階の発癌過程を経ると考えられている。肺腺癌も同様であり、前癌病変に相当する病変として、異型腺腫様過形成があげられる。そのほとんどが2mm程度の微小で“がん”としての基準を完全には満たさない異型腺腫様過形成が前癌病変に相当する。この前癌病変は、偶発的に見出されることがほとんどで、遺伝子検索が容易に行える凍結組織が得られることはほとんどない。本研究に先だって現在解析可能なサンプルを用いて、簡便に遺伝子変異の検討を可能にする系を確立した(J Mol Diagn 2006)。本研究ではこの新しい記述を用いて、肺腺癌の早期発展過程について検討を進めた。

### 2. 研究の目的

切除された肺では、偶発的に前がん病変から浸潤病変までのいろいろな小病変が発見される。それらの病変は現在想定されている肺癌の多段階発がんモデルにおける全ての病変に相当し、発がん過程のよい研究対象である。そこでこれらの病変について解析し、肺腺癌の早期発展過程について検討した。

### 3. 研究の方法

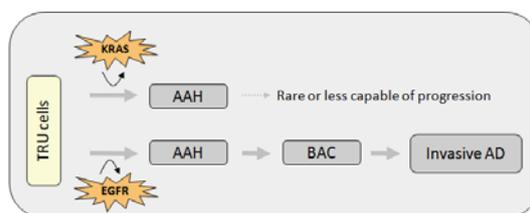
本研究では、前癌病変 40 例(異型腺腫様過形成)、上皮内癌 26 例(非粘液型細気管支肺胞上皮癌)、微小浸潤を伴う腺癌 14 例、明らかな浸潤性腺癌 34 例、その他の組織型の肺癌 5 例の合計 119 の同時性肺病変において、EGFR と KRAS 遺伝子突然変異を検討した。

### 4. 研究成果

KRAS と EGFR 遺伝子突然変異の相互排他的な関係は前癌病変でも保たれていたが、想定される段階的発がんモデルにおけるこれら遺伝子変異の頻度は全く異なっていた。KRAS 遺伝子突然変異は前癌病変の 33%、上皮内癌の 12%、微小浸潤腺癌の 8%、浸潤性高分化腺癌の 0%に生じていた一方、EGFR 遺伝子突然変異の頻度には上昇傾向が認められ、前癌病変で 25%、上皮内癌で 36%、微小浸潤癌で 86%、高分化腺癌で 67%であった。

すでに報告しているように(J Pathol 2004)、

浸潤癌では KRAS 遺伝子変異は 10%程度であり、異型腺腫様過形成が浸潤癌に進展すると考えるには矛盾が生じる。そこで2つの知見を説明するには次の仮説が導き出された。すなわち、KRAS 遺伝子変異を有する異型腺腫様過形成はもはやそれ以上進展しない病変である可能性である。また、異型腺腫様過形成という病変は同じであっても、EGFR 遺伝子変異を有する場合は上皮内癌から、さらには浸潤癌と浸潤する可能性も示唆された(下記図)。



実際に、他のグループから発表されている遺伝子改変マウスを用いた実験では上記と同じ現象が報告されている。KRAS 遺伝子改変マウスは、浸潤性腺癌よりむしろ AAH を生ずる一方で、変異 EGFR を発現するマウスでは前浸潤病変から浸潤性腺癌までの広い段階の病変がみられるという所見は、本研究の結果と矛盾しない。

また、臨床的にも高解像度 CT などで発見される孤立性すりガラス様陰影については、経過観察中に大きくならない場合と緩徐に大きくなる場合があることが知られている。これらの違いは獲得されている遺伝子の変異であることとも推測される。現在、このような早期の病変については大きさの変化や充実性病変が付加された場合に切除が行われているが、切除すべきか否かの判断は難しい。本研究で得られた結果から、遺伝子異常を調べることで、積極的に介入すべきか否かについての決定に役立つと思われる。そこで、早期肺癌を用いた国内臨床治験(JCOG など)と連携をとり、まずは後ろ向き研究としてどのような臨床応用が可能か検討を始めたい。

### 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 件)

1. Fukuhara N, Nakamura T, Nakagawa M, Tagawa H, Takeuchi I, Yatabe Y, Morishima Y, Nakamura S, Seto M: Chromosomal imbalances are associated with outcome of Helicobacter pylori eradication in t(11;18)(q21;q21) negative gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphomas, *Genes Chromosomes Cancer* 2007, 46:784-790
2. Fukui T, Sakakura N, Mori S, Hatooka S, Shinoda M, Yatabe Y, Mitsudomi T: Controversy about small peripheral lung adenocarcinomas: how should we manage them?, *J Thorac Oncol* 2007, 2:546-552
3. Fuwa N, Mitsudomi T, Daimon T, Yatabe Y, Shinoda M, Hatooka S, Mori S, Fukui T, Inaba Y: Factors involved in lymph node metastasis in clinical stage I non-small cell lung cancer-From studies of 604 surgical cases, *Lung Cancer* 2007, 57:311-316
4. Hisa T, Suda K, Nobukawa B, Ohkubo H, Shiozawa S, Ishigame H, Yamao K, Yatabe Y: Distribution of Intraductal Lesions in Small Invasive Ductal Carcinoma of the Pancreas, *Pancreatology* 2007, 7:341-346
5. Isaka T, Nakamura T, Tajika M, Kawai H, Imaoka H, Okamoto Y, Aoki M, Inoue H, Takahashi K, Mizuno N, Sawaki A, Yamao K, Seto M, Yokoi T, Yatabe Y, Nakamura S: API2-MALT1 chimeric transcript-positive gastroduodenal MALT lymphoma with subsequent development of adenocarcinoma as a collision tumour over a clinical course of 7 years, *Histopathology* 2007, 51:119-123
6. Matsuo K, Ito H, Yatabe Y, Hiraki A, Hirose K, Wakai K, Kosaka T, Suzuki T, Tajima K, Mitsudomi T: Risk factors differ for non-small-cell lung cancers with and without EGFR mutation: assessment of smoking and sex by a case-control study in Japanese, *Cancer Sci* 2007, 98:96-101
7. 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* 2007, 98:1817-1824
8. Murakami YI, Yatabe Y, Sakaguchi T, Sasaki E, Yamashita Y, Morito N, Yoh K, Fujioka Y, Matsuno F, Hata H, Mitsuya H, Imagawa S, Suzuki A, Esumi H, Sakai M, Takahashi S, Mori N: c-Maf expression in angioimmunoblastic T-cell lymphoma, *Am J Surg Pathol* 2007, 31:1695-1702
9. Nakamura T, Seto M, Tajika M, Kawai H, Yokoi T, Yatabe Y, Nakamura S: Clinical Features and Prognosis of Gastric MALT Lymphoma With Special Reference to Responsiveness to H. pylori Eradication and API2-MALT1 Status, *Am J Gastroenterol* 2007,
10. Oka K, Sando N, Moriya T, Yatabe Y: Malignant adenomyoepithelioma of the breast with matrix production may be compatible with one variant form of matrix-producing carcinoma: A case report, *Pathol Res Pract* 2007, 203:599-604
11. Onozato R, Kosaka T, Achiwa H, Kuwano H, Takahashi T, Yatabe Y, Mitsudomi T: LKB1 gene mutations in Japanese lung cancer patients, *Cancer Sci* 2007,
12. Sakamoto H, Shimizu J, Horio Y, Ueda R, Takahashi T, Mitsudomi T, Yatabe Y: Disproportionate representation of KRAS gene mutation in atypical adenomatous hyperplasia, but even distribution of EGFR gene mutation from preinvasive to invasive adenocarcinomas, *J Pathol* 2007, 212:287-294
13. Sasaki E, Tsunoda N, Hatanaka Y, Mori N, Iwata H, Yatabe Y: Breast-specific expression of MGB1/mammaglobin: an examination of 480 tumors from various organs and clinicopathological analysis of MGB1-positive breast cancers, *Mod Pathol* 2007, 20:208-214
14. Sasaki E, Yatabe Y, Hashimoto M, Yamashita Y, Hasegawa Y, Kojima H, Nagasawa T, Mori N: Development-dependent expression of cyclin D3 in precursor T-cell lymphoblastic leukemia/lymphoma, *Pathol Int* 2007, 57:53-59
15. Sato T, Murakumo Y, Hagiwara S, Jijiwa M, Suzuki C, Yatabe Y, Takahashi M: High-level expression of CD109 is frequently detected in lung squamous cell carcinomas, *Pathol Int* 2007, 57:719-724
16. Satouchi M, Negoro S, Funada Y, Urata Y, Shimada T, Yoshimura S, Kotani Y, Sakuma T, Watanabe H, Adachi S, Takada Y, Yatabe Y, Mitsudomi T: Predictive factors associated with prolonged survival in patients with advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC) treated with gefitinib, *Br J Cancer* 2007, 96:1191-1196
17. Suzuki T, Matsuo K, Hiraki A, Saito T, Sato S, Yatabe Y, Mitsudomi T, Hida T, Ueda R, Tajima K: Impact of one-carbon metabolism-related gene polymorphisms on risk of lung cancer in Japan: a case control study, *Carcinogenesis* 2007, 28:1718-1725
18. Tajika M, Nakamura T, Kawai H, Sawaki A,

- Mizuno N, Takahashi K, Yokoi T, Yatabe Y, Hirai T, Yamao K, Kato T: A case of colonic morule with colitis cystica profunda, *Gastrointest Endosc* 2007, 65:162-163; discussion 163
19. Tanahashi C, Yabuki S, Akamine N, Yatabe Y, Ichihara S: Pure acinic cell carcinoma of the breast in an 80-year-old Japanese woman, *Pathol Int* 2007, 57:43-46
  20. Tanaka H, Yanagisawa K, Shinjo K, Taguchi A, Maeno K, Tomida S, Shimada Y, Osada H, Kosaka T, Matsubara H, Mitsudomi T, Sekido Y, Tanimoto M, Yatabe Y, Takahashi T: Lineage-specific dependency of lung adenocarcinomas on the lung development regulator TTF-1, *Cancer Res* 2007, 67:6007-6011
  21. Taniguchi T, Karnan S, Fukui T, Yokoyama T, Tagawa H, Yokoi K, Ueda Y, Mitsudomi T, Horio Y, Hida T, Yatabe Y, Seto M, Sekido Y: Genomic profiling of malignant pleural mesothelioma with array-based comparative genomic hybridization shows frequent non-random chromosomal alteration regions including JUN amplification on 1p32, *Cancer Sci* 2007, 98:438-446
  22. Tomida S, Yanagisawa K, Koshikawa K, Yatabe Y, Mitsudomi T, Osada H, Takahashi T: Identification of a metastasis signature and the DLX4 homeobox protein as a regulator of metastasis by combined transcriptome approach, *Oncogene* 2007, 26:4600-4608
  23. Toyooka S, Matsuo K, Shigematsu H, Kosaka T, Tokumo M, Yatabe Y, Ichihara S, Inukai M, Suehisa H, Soh J, Kiura K, Fong KM, Lee H, Wistuba II, Gazdar AF, Mitsudomi T, Date H: The Impact of Sex and Smoking Status on the Mutational Spectrum of Epidermal Growth Factor Receptor Gene in Non small Cell Lung Cancer, *Clin Cancer Res* 2007, 13:5763-5768
  24. Yamada H, Hasegawa Y, Mitsudomi T, Nakashima T, Yatabe Y: Neuroendocrine tumor metastasis to the thyroid gland, *Int J Clin Oncol* 2007, 12:63-67
  25. Yamada K, Yatabe Y, Sugiura H: Osteosarcoma with skeletal muscle metastasis, *Arch Orthop Trauma Surg* 2007,
  26. Yanagisawa K, Tomida S, Shimada Y, Yatabe Y, Mitsudomi T, Takahashi T: A 25-signal proteomic signature and outcome for patients with resected non-small-cell lung cancer, *J Natl Cancer Inst* 2007, 99:858-867
  27. Yatabe Y, Mitsudomi T: Epidermal growth factor receptor mutations in lung cancers, *Pathol Int* 2007, 57:233-244
  28. Yoshida K, Yatabe Y, Park JY, Shimizu J, Horio Y, Matsuo K, Kosaka T, Mitsudomi T, Hida T: Prospective validation for prediction of gefitinib sensitivity by epidermal growth factor receptor gene mutation in patients with non-small cell lung cancer, *J Thorac Oncol* 2007, 2:22-28
  29. Furue H, Matsuo K, Kumimoto H, Hiraki A, Suzuki T, Yatabe Y, Komori K, Kanemitsu Y, Hirai T, Kato T, Ueda M, Ishizaki K, Tajima K: Decreased risk of colorectal cancer with the high Natural-Killer (NK)-cell activity NKG2D genotype in Japanese, *Carcinogenesis* 2008, 29:316-320
  30. Fuwa N, Daimon T, Mitsudomi T, Yatabe Y, Kodaira T, Tachibana H, Nakamura T, Kato T, Sato Y: Identifying patients with peripheral-type early non-small cell lung cancer (T1N0M0) for whom irradiation of the primary focus alone could lead to successful treatment, *Br J Radiol* 2008, 81:815-820
  31. Hara M, Nakanishi H, Tsujimura K, Matsui M, Yatabe Y, Manabe T, Tatematsu M: Interleukin-2 potentiation of cetuximab antitumor activity for epidermal growth factor receptor-overexpressing gastric cancer xenografts through antibody-dependent cellular cytotoxicity, *Cancer Sci* 2008, 99:1471-1478
  32. Ichihara S, Ikeda T, Kimura K, Hanatate F, Yamada F, Hasegawa M, Moritani S, Yatabe Y: Coincidence of mammary and sentinel lymph node papilloma, *Am J Surg Pathol* 2008, 32:784-792
  33. Matsuo K, Hiraki A, Ito H, Kosaka T, Suzuki T, Hirose K, Wakai K, Yatabe Y, Mitsudomi T, Tajima K: Soy consumption reduces the risk of non-small-cell lung cancers with epidermal growth factor receptor mutations among Japanese, *Cancer Sci* 2008, 99:1202-1208
  34. Moritani S, Ichihara S, Mukai K, Seki Y, Inoue S, Yasuda A, Hakiri S, Yatabe Y, Eimoto T: Sarcomatoid carcinoma of the thymus arising in metaplastic thymoma, *Histopathology* 2008, 52:409-411
  35. Nakamura T, Seto M, Tajika M, Kawai H, Yokoi T, Yatabe Y, Nakamura S: Clinical Features and Prognosis of Gastric MALT Lymphoma With Special Reference to Responsiveness to H. pylori Eradication and API2-MALT1 Status, *Am J Gastroenterol* 2008, 103:62-70
  36. Okasaka T, Usami N, Mitsudomi T, Yatabe Y, Matsuo K, Yokoi K: Stepwise examination for differential diagnosis of primary lung cancer and breast cancer relapse presenting as a solitary pulmonary nodule in patients after mastectomy, *J Surg Oncol* 2008, 98:510-514
  37. Osada H, Tomida S, Yatabe Y, Tatematsu Y,

- Takeuchi T, Murakami H, Kondo Y, Sekido Y, Takahashi T: Roles of achaete-scute homologue 1 in DKK1 and E-cadherin repression and neuroendocrine differentiation in lung cancer, *Cancer Res* 2008, 68:1647-1655
38. Sakakura N, Mori S, Okuda K, Fukui T, Hatooka S, Shinoda M, Matsuo K, Yatabe Y, Yokoi K, Mitsudomi T: Subcategorization of lung cancer based on tumor size and degree of visceral pleural invasion, *Ann Thorac Surg* 2008, 86:1084-1090
39. Shimizu J, Horio Y, Osada H, Hida T, Hasegawa Y, Shimokata K, Takahashi T, Sekido Y, Yatabe Y: mRNA expression of RRM1, ERCC1 and ERCC2 is not associated with chemosensitivity to cisplatin, carboplatin and gemcitabine in human lung cancer cell lines, *Respirology* 2008, 13:510-517
40. Tatematsu A, Shimizu J, Murakami Y, Horio Y, Nakamura S, Hida T, Mitsudomi T, Yatabe Y: Epidermal growth factor receptor mutations in small cell lung cancer, *Clin Cancer Res* 2008, 14:6092-6096
41. Terada A, Hasegawa Y, Yatabe Y, Hyodo I, Ogawa T, Hanai N, Ikeda A, Nagashima Y, Masui T, Hirakawa H, Nakashima T: Intraoperative diagnosis of cancer metastasis in sentinel lymph node of oral cancer patients, *Oral Oncol* 2008, 44:838-843
42. Torikai H, Akatsuka Y, Yatabe Y, Morishima Y, Kodera Y, Kuzushima K, Takahashi T: Aberrant expression of BCL2A1-restricted minor histocompatibility antigens in melanoma cells: application for allogeneic transplantation, *Int J Hematol* 2008, 87:467-473
43. Toyooka S, Takano T, Kosaka T, Hotta K, Matsuo K, Ichihara S, Fujiwara Y, Soh J, Otani H, Kiura K, Aoe K, Yatabe Y, Ohe Y, Mitsudomi T, Date H: Epidermal growth factor receptor mutation, but not sex and smoking, is independently associated with favorable prognosis of gefitinib-treated patients with lung adenocarcinoma, *Cancer Sci* 2008, 99:303-308
44. Yamada K, Yatabe Y, Sugiura H: Osteosarcoma with skeletal muscle metastasis, *Arch Orthop Trauma Surg* 2008, 128:695-699
45. Yatabe Y, Takahashi T, Mitsudomi T: Epidermal growth factor receptor gene amplification is acquired in association with tumor progression of EGFR-mutated lung cancer, *Cancer Res* 2008, 68:2106-2111
46. Yokoyama T, Osada H, Murakami H, Tatematsu Y, Taniguchi T, Kondo Y, Yatabe Y, Hasegawa Y, Shimokata K, Horio Y, Hida T, Sekido Y: YAPI is involved in mesothelioma development and negatively regulated by Merlin through phosphorylation, *Carcinogenesis* 2008, 29:2139-2146
- [学会発表] (計 14 件)
1. 日本病理学会中部・近畿支部合同夏期病理診断セミナー; 肺腫瘍の病理 (2008 年 8 月 26 日)
  2. Poster Discussant (PD1-3, Pathology Session); World Conference of Lung Cancer, Seoul Korea, (September 3, 2007)
  3. 日本臨床細胞診学会東海連合会例会; 体腔液の細胞診, 名古屋大学 (2007 年 9 月 27 日)
  4. 日本癌治療学会 教育セミナー; 病理組織像と悪性度、京都 (2007 年 10 月 26 日)
  5. 産業総合研究所セミナー; 肺がんの病理解析とバイオマーカー開発 (2007 年 11 月 30 日)
  6. 筑波大学病院セミナー; 免疫組織学的解析や遺伝子診断を用いた転移性腫瘍の鑑別診断, つくば市 (2007 年 11 月 30 日)
  7. ACCIS XIII Advances in Breast Cancer Research; Overview of Molecular Classification of Breast Cancer, Nagoya (February 16, 2008)
  8. 日本病理学会総会 ワークショップ; 肺腺癌と terminal respiratory unit, 金沢 (2008 年 5 月 15 日)
  9. 日本肺癌学会ワークショップ; 肺腺癌と terminal respiratory unit, つくば市 (2008 年 7 月 19 日)
  10. Kazusa Akademia Respiratory Forum; Emerging molecular landscape for lung adenocarcinoma development, Chiba (September 20, 2008)
  11. 日本外科病理学会ワークショップ、肺癌の多発と転移の評価、東京 (2008 年 9 月 27 日)
  12. Nanjing International Symposium on Cancer Treatment; Differential diagnosis of Lung cancer, China (October 16, 2008)
  13. 日本肺癌学会シンポジウム「肺腺癌の特性」; EGFR 遺伝子変異 IKRAS 遺伝子変異の差, 小倉 (2008 年 11 月 12 日)
  14. IASLC pathology panel meeting at Memorial Sloan Kettering Cancer Center; Proposed distinction between terminal respiratory unit and proximal subtypes, New York (March 27-28, 2008)
- [図書] (計 2 件)
1. 新細胞診診断学入門(第 2 版)、I 総論, 分子生物学 (名古屋大学出版会)
  2. ロビンス&コートラン 病理学アトラス (Elsevier Japan)

〔産業財産権〕

○出願状況（計 1 件）

名称： 肺腺癌患者の術後予後を予測する  
ための方法及び組成物

発明者： 高橋隆、富田秀太、竹内俊幸、谷田  
部 恭、光富徹哉

種類： C12N 15/09, C12Q 1/68

番号： P07-1187

出願年月日：平成 19 年 12 月 28 日

国内外の別：国際特許

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者：

谷田部 恭 (YATABE, Yasushi)

愛知県がんセンター(研究所)・

分子腫瘍学部・研究員

研究者番号：90280809

(2) 研究分担者：なし

(3) 連携研究者：なし