

P-1 肺癌手術症例における血清中 DNA における EGFR 遺伝子の変異検索

藤原 豊¹・近藤 征史²・横山 俊彦³・宇佐美範恭³
横井 香平³・関戸 好孝⁴・今泉 和良²・久米 裕昭²
長谷川好規²

名古屋医療センター 呼吸器科¹；名古屋大学医学部 呼吸器内科²；名古屋大学医学部 胸部外科³；愛知県がんセンター研究所 分子腫瘍学⁴；名古屋第一赤十字病院 呼吸器内科⁵

【背景】上皮成長因子受容体 (EGFR) 遺伝子は，女性，非喫煙者の腺癌において高頻度に変異を認め，EGFR チロシンキナーゼ阻害剤の効果と相関することが知られている。IV 期の肺癌症例においては，血清中より抽出した DNA から，腫瘍と同様な EGFR 遺伝子変異を検出できることが報告されている。【目的】本研究では，手術可能な早期肺癌症例においても血清中より抽出した DNA から，EGFR 遺伝子変異が検出可能か検討した。【方法】名古屋大学病院にて手術を施行し，Exon19, 21 に EGFR 遺伝子変異を有する肺癌症例 (n = 34) を検討した。手術直前に採取した血清 (-80℃ で保存) 中より DNA を抽出し，高感度 EGFR 遺伝子検出法である PNA-LNA clamp 法で EGFR 遺伝子変異を検出した。【結果】切除腫瘍組織より，L858R (n = 21)，del2235-2249 (n = 4)，del2236-2250 (n = 9) の EGFR 遺伝子変異を認めた。血清中より EGFR 遺伝子変異が検出できたのは，病理病期 IB 期の肺腺癌症例一例のみであった。この症例においては，切除腫瘍組織と血清中の EGFR 遺伝子変異の位置は一致していた。【結論】手術可能な早期肺癌症例においては，高感度のアッセイ法を用いても血清中の EGFR 遺伝子の変異を検出できる頻度は低く，血清中 DNA の大部分は腫瘍由来ではないと考えられた。

P-2 血中微量 DNA を用いた腫瘍由来変異遺伝子検出方法の確立，検体処理方法の検討

木村 英晴・笠原 寿郎・酒井 麻夫・丹保 裕一
田森 俊一・片山 伸幸・安井 正英・藤村 政樹
金沢大学医学部附属病院 呼吸器内科

【はじめに】近年，予後もしくは治療効果を予測するためのバイオマーカーの研究が盛んに行われている。その成果として，癌由来の遺伝子異常が患者の予後や薬剤の感受性と関連していることを示す報告がなされてきた。これまで我々は上皮成長因子受容体 (EGFR) 遺伝子変異を中心に，腫瘍代替組織を用いた腫瘍由来遺伝子異常の検出を試みてきた。なかでも，血中に循環している微量 DNA の有用性に着目している。今回の研究は，腫瘍代替サンプルとして血液検体を用いる場合に最も適した処理方法を確立することを目的に行った。【方法】組織学的に非小細胞肺癌と診断されている患者を対象に，生検時などに得られた腫瘍組織，血液を用いた。血液検体から，血清中 DNA，血漿中 DNA，血球付着 DNA を抽出し，DNA 量，腫瘍由来遺伝子変異の有無，を検討した。DNA 量は定量的 PCR 法を用いて得られた濃度から算出された。腫瘍由来遺伝子変異 (EGFR, K-ras, p53) はダイレクトシーケンシング法を用いて検出された。【結果】DNA 量の検討；全症例で血清中 DNA が最も多かった。腫瘍由来遺伝子変異の有無；腫瘍組織から遺伝子変異を有していた症例では，血漿中 DNA から，血球付着 DNA から同じ遺伝子変異が検出された症例がみられた。腫瘍組織から遺伝子変異が検出されなかった症例では，いずれの血液検体からも遺伝子変異は検出されなかった。【結論】血液を用いて腫瘍由来遺伝子変異を検出するための検体として，血漿 DNA もしくは血球付着 DNA が有用であると考えられた。

P-3 CT ガイド下肺生検針洗浄液からの EGFR 遺伝子変異の検出

大谷 弘樹・豊岡 伸一・治田 賢・市原 周治
小林 成行・宗 淳一・末久 弘・山根 正修
大藤 剛宏・佐野 由文・伊達 洋至

岡山大学大学院医歯学総合研究科 腫瘍胸部外科学

【目的】EGFR 遺伝子変異は非小細胞肺癌に特異的な異常であり，EGFR チロシンキナーゼ阻害剤であるゲフィチニブの感受性に強く相関している。今回，我々は診断目的で施行した CT ガイド下肺生検後の生検針を洗浄し，洗浄液より EGFR 遺伝子変異の検出の可能性について検討を行ったので報告する。【方法】肺病変に対し診断目的で CT ガイド下肺生検を施行した 35 例について検討を行った。生検組織採取後に生検針の洗浄を行い，洗浄液から DNA を抽出し Mutant-Enriched PCR 法により EGFR 遺伝子における exon19/exon21 変異の検出を行った。そのうち，手術を施行した症例では，術後標本より EGFR 遺伝子変異を検索し比較検討した。【成績】CT ガイド下肺生検を施行した 35 例の内訳は，腺癌 22 例 (62.9%)，扁平上皮癌 1 例 (2.9%)，良性病変 12 例 (34.2%) であった。また，肺癌 23 例中，EGFR 遺伝子変異は 15 例 (65.2%) に認められ，そのうち exon19 に 4 例 (26.7%)，exon21 に 11 例 (73.3%) の遺伝子変異を認めた。また，抽出した DNA 濃度の中央値は 3.2ng/μl (0.7-47.2ng/μl) と微量であった。腫瘍最大径の中央値は 19.5mm (6.2-50.8mm) であり，DNA 濃度と相関関係は認めなかった。さらに，CT ガイド下肺生検後に手術を施行した 19 例において，術後標本から EGFR 遺伝子変異を検出し比較検討を行ったが，それぞれの解析結果に相異は認めなかった。【結論】CT ガイド下肺生検後の針洗浄液より，微量な DNA を抽出し，EGFR 遺伝子変異の検出が可能であった。EGFR 遺伝子変異は非小細胞肺癌に特異的であり，ゲフィチニブ感受性を予測できることから，本法は非小細胞肺癌の診断，治療に応用可能と思われる。

P-4 腫瘍遺伝子変異解析による再発・重複肺癌の診断への応用

祿里 真也・園部 誠・藤永 卓司・佐藤 澄
庄司 剛・阪井 宏彰・宮原 亮・板東 徹
大久保憲一・平田 敏樹・和田 洋巳
京都大学医学部附属病院 呼吸器外科

【はじめに】EGFR 遺伝子や K-ras 遺伝子の変異は肺腺癌に高頻度に見られるため，病理組織診では鑑別困難な再発及び重複肺癌の鑑別に応用できる。【症例 1】70 歳女性。左下葉に結節影，右上葉に GGO を認めた。左下葉切除術及び右上葉切除術を施行，共に混合型腺癌で類似した組織像であり組織学的に転移か同時性多発肺癌かの確定診断はできなかった。EGFR 遺伝子解析にて，左下葉腺癌は Exon19 欠失変異，右上葉腺癌は Exon21 点突然変異を認め，同時重複肺癌と診断した。共に pT2N0M0 であり，UFT 内服治療中である。【症例 2】43 歳女性。2 年前，右中葉切除術施行 (Ad. pT2N0M0)。右下葉及び右上葉に結節影出現，右上葉区域切除及び下葉部分切除術を施行した。共に混合型腺癌であり，3 つの腫瘍の組織像は類似していた。2 年前の腫瘍は EGFR Exon19 欠失変異，今回切除した腫瘍は共に EGFR は野生型で K-ras 変異を認めた。再発ではなく新たな原発性肺癌であり，今回の上下葉腫瘍は他肺葉転移の可能性が高いと判断，pT1N0M1 (PUL) にて CBDCA + PTX の術後化学療法を施行した。【症例 3】56 歳女性。3 年前，右中葉切除術施行 (Ad. pT1N0M0)。右上葉に増大する径 1cm 大の GGO を認め，上葉部分切除術を施行した。共に混合型腺癌であり，遺伝子解析も共に同一の EGFR Exon19 欠失変異を認めた。再発を否定できないが，高頻度の組織型及び遺伝子変異で，腫瘍径 2cm 以下かつ評価可能病変もないため経過観察としている。【まとめ】病理診断で再発か多発癌かの鑑別が困難な肺癌に対して，遺伝子解析はより詳細な分類を行え診断に応用できる。