

日本の肺癌

肺癌死亡率の年次変化 (図 3a), および 2007 年の国内癌患者全死亡数のうち肺癌の占める割合 (図 3b) を男女別に示した。全癌のうち肺癌が大きな割合を占めていることが明確であることに加え, 明らかな男女差が認められる。全世界でみられる傾向とよく似ていることがわかる。

なぜ女性に喫煙と関連のない肺癌が多いのか

最も単純な説明は, 女性に喫煙者が少ないというものである。喫煙が完全に根絶された場合に, 肺癌患者の構成がどのようなものになるかを推定することは, 受動喫煙の影響もありそれほど簡単ではない。

乳癌などいくつかの癌では, 女性ホルモンが癌の増殖, 進展に大きな役割を演じている。女性の肺癌は腺癌が多いため, 女性ホルモンとの関連を疑いたくなる。しかし, 一般に肺癌はホルモン依存性ではない。また, ホルモン補充療法は乳癌の発生率を増加させることが知られているが, 肺癌との関連は認められていない⁸⁾。日本人では, 初潮年齢が若い女性, 閉経年齢が遅い女性は肺癌のリスクが高いという結果が報告されているが⁹⁾, 海外ではそれと相反する結果もある。現時点では, 女性ホルモンと肺癌との関連は明確ではない。

なぜ女性に腺癌が多いのか

実際, 女性に腺癌が多いのだろうか。北米

のデータでは, 腺癌の男女の頻度はそれほど変わらないようだ³⁾。しかしながら, アジアでの腺癌の頻度は明確に女性で高い。腺癌頻度にも人種差がありそうである。

なぜ喫煙と関連のない女性肺癌がアジアに多いのか

この問題は以前から注目されており, さまざまな因子の関与が考えられてきた。それらのいくつかを列挙する。

- ① 副流煙: いわゆる受動喫煙の影響である。しかし, 喫煙者の配偶者と非喫煙者の配偶者を比較した研究などをみると, 受動喫煙の発癌作用はかなり小さいようだ。非喫煙者肺癌全体を説明するのは難しい。
- ② ラドン, アスベスト: 発癌作用があると考えられる物質の環境曝露も原因として考えられている。しかし, ラドンやアスベストの発癌作用は弱く, 非喫煙者の肺癌を説明できるものではないとされる。
- ③ benzo [a] pyrene: 芳香族の発癌物質。熱した油から発生するため, 油を熱する中華料理を作る中国でみられる女性・非喫煙者肺癌の原因の 1 つとして, 一時期盛んに研究された。日本でも女性・非喫煙者の肺癌は多いが, 日本料理は熱した油を使用することは少ない。アジアにおける女性, 非喫煙者肺癌を説明することは難しそうである。

上記はすべて環境因子である。現時点で, アジアの女性・非喫煙者肺癌を説明できる環境因子は見つかっていない。前記のように, 乳癌が女性ホルモンと密接な関連があるため, 同種の腺癌である肺腺癌が女性ホルモンによって惹起されるかなどの研究も行われて

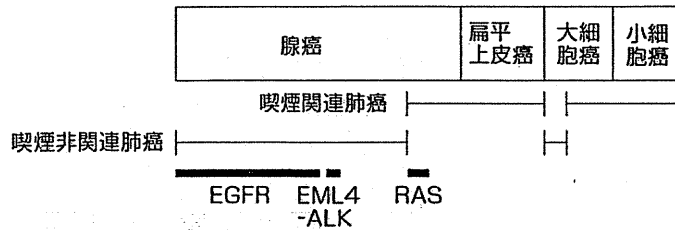


図 4 遺伝子変異による肺癌の亜分類

いるが、明確な関連は示されていない。

EGFR 遺伝子変異の発見

EGFR 遺伝子変異の発見¹⁰⁾¹¹⁾は、女性・非喫煙者肺癌の原因に関して大きな進歩をもたらした。非小細胞肺癌でみられる EGFR 遺伝子変異は、細胞増殖を刺激する癌遺伝子としての作用を有する。女性・非喫煙者肺癌に多くみられ、さらにアジア人に多い¹²⁾。女性・非喫煙者肺癌の性差、人種差の原因が EGFR 遺伝子変異の性差、人種差として説明できる可能性が出てきたのである。EGFR 遺伝子変異頻度、その性差などの情報が、東アジア、南アジアの非喫煙者肺癌のどのくらいの部分を説明できるかはいまだ明確ではない。日本での研究では、非喫煙者女性腺癌の半数に EGFR 遺伝子変異が認められている。少なくとも日本では、女性、非喫煙者肺癌の多くに EGFR 遺伝子変異が関与していることは間違いなさそうである。

腺癌のサブタイプ

EGFR 遺伝子変異の発見に次いで、肺腺癌関連癌遺伝子として EML4-ALK が発見された¹³⁾。EML4-ALK は 2 種の遺伝子の融合によって生じる異常遺伝子であり、細胞増殖を

刺激する。融合遺伝子は、レトロウイルスにみられる癌遺伝子、また血液悪性腫瘍にみられる癌遺伝子ではよく知られていたが、固形腫瘍では、甲状腺癌の RET-CCDC6 など少数のものしか知られていなかった。EGFR, RAS, EML4-ALK を合わせ、癌細胞が保有する活性化癌遺伝子の種類により肺腺癌を遺伝子的に亜分類できることが明らかになりつつある (図 4)。この亜分類は病理組織像ともある程度相関があり、熟練した病理医は形態学的にも遺伝子変異の存在を推察できる場合があるという。

- ① EGFR 遺伝子変異：日本人非小細胞肺癌全体の 30%、非喫煙者女性肺癌の半数以上に認められる。変異 EGFR 遺伝子はゲフィチニブ (gefitinib)、エルロチニブ (erlotinib) の標的分子であり、両薬剤は変異 EGFR を正常 EGFR の 10~100 倍効率的に抑制し、腫瘍縮小効果を現す¹⁰⁾。
- ② EML4-ALK 融合遺伝子：地域によらず、非小細胞肺癌の 5%に認められる。EGFR に対しゲフィチニブ、エルロチニブ同様、EML4-ALK 陽性肺癌にはクリゾチニブ (crizotinib) に代表される ALK 阻害薬が著効を示す。EGFR 遺伝子変異陽性非小細胞肺癌に対するゲフィチニブ、エルロチニブの効果と、EML4-ALK 陽性肺癌に対するクリゾチニブの効果はほぼ同等のよう

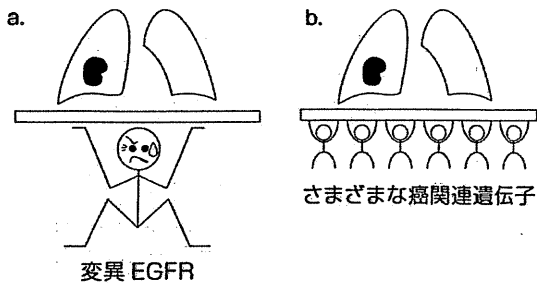


図 5 Oncogene addiction

- 1つの癌遺伝子に大きく依存している肺癌のモデル。依存している遺伝子の阻害薬が著効する。
- 複数の癌遺伝子に少しずつ依存している肺癌のモデル。著効する薬剤が見つげにくい。

ある¹⁴⁾。

- ③ K-ras 遺伝子変異：日本人非小細胞肺癌の5%程度に K-ras の変異が認められる。K-ras 変異は喫煙者にみられる腺癌に多くみられ、米国では非小細胞肺癌の主要な遺伝子変異である。奇妙なことに、RAS 阻害薬は K-ras 変異に無効で、また K-ras 変異のある肺癌は抗癌薬に抵抗性を示すとされる。

Oncogene addiction

癌は、数十にも及ぶ遺伝子変異の結果生じるとされる。重要な遺伝子が早期に障害され、活性化癌遺伝子が生じると、それだけ癌は若い年齢で生じ、また、癌は障害された遺伝子機能に大きく依存したものとなると考えられる。1つの癌遺伝子に大きく依存する場合、それを oncogene addiction という (図 5a)¹⁵⁾。Oncogene addiction がある場合、その遺伝子に対する阻害薬は癌の有力な治療薬になると考えられる。EGFR 変異, EML4-ALK 融合遺伝子を有する肺癌は、若年で生じ、EGFR, EML4-ALK 阻害薬が著効することから、

oncogene addiction の状態にあると考えられる。加齢とともに増加する癌は、多数の効果の小さな癌関連遺伝子の作用が積み重なり、その結果として発生している可能性がある (図 5b)。後者のような分子機構を有する癌では、著効する薬剤が見つかりにくいと想像される。

奇妙なことに、oncogene addiction を起こしている遺伝子を分子標的とした治療のみでは、すべての癌細胞を殺しきれないようである。ゲフィチニブ, エルロチニブ, クリゾチニブ, さらには慢性骨髄性白血病で使用されるイマチニブ (imatinib) でも同様な結果が得られており、薬剤を中止すると悪性腫瘍が再増殖する。この現象を考慮に入れ、分子標的薬剤とほかの薬剤をどのように組み合わせるかが、今後の癌治療の1つのテーマになると考えられる。

肺癌の性差と遺伝子変異

現在までに、非喫煙者肺癌では EGFR 遺伝子変異や EML4-ALK 融合遺伝子が認められることが判明したが、それらは肺癌の性差、地域差を解明する端緒に過ぎない。

われわれの研究では、EGFR 遺伝子変異は女性と密接に関連しているのではなく、腺癌と密接に関連していた¹⁶⁾。腺癌が女性に多いため、EGFR 遺伝子変異が女性に多くみられるようだ。EGFR 遺伝子変異と腺癌は極めて密接に結びついている。そして腺癌は女性に多い。しかしこれ以上のことはわかっていない。

おわりに

自然科学においては、何らかの明確な相違がある事象の方が、相違のない事象より説明が容易である。性差、人種差、遺伝子変異頻度の相違のある腺癌の方が、扁平上皮癌よりも解決しやすそうに思える。若年者にみられる腺癌は、かつては進行が速く有効な治療がない深刻な病気であった。現在でも根治が難しいことは変わらないが、10年前と比較し驚くべき進歩がみられた分野である。この分野は研究者の注目を集め続ける分野となろう。性差、遺伝子変異頻度差を切り口に、肺癌研究のさらなる治療の進歩が期待される。

文献

- 1) GLOBOCAN 2008. (<http://globocan.iarc.fr/>)
- 2) Toh CK. The changing epidemiology of lung cancer. *Methods Mol Biol* 2009 ; 472 : 397-411.
- 3) Egleston BL, Meireles SI, Flieder DB, et al. Population-based trends in lung cancer incidence in women. *Semin Oncol* 2009 ; 36 : 506-15.
- 4) Ernster VL. Female lung cancer. *Annu Rev Public Health* 1996 ; 17 : 97-114.
- 5) Wakelee HA, Chang ET, Gomez SL, et al. Lung cancer incidence in never smokers. *J Clin Oncol* 2007 ; 25 : 472-8.
- 6) Sun S, Schiller JH, Gazdar AF. Lung cancer in never smokers : a different disease. *Nat Rev Cancer* 2007 ; 7 : 778-90.
- 7) Jindal SK, Malik SK, Dhand R, et al. Bronchogenic carcinoma in Northern India. *Thorax* 1982 ; 37 : 343-7.
- 8) Beral V, Hermon C, Kay C, et al. Mortality associated with oral contraceptive use : 25 year follow up of cohort of 46000 women from Royal College of General Practitioners' oral contraception study. *BMJ* 1999 ; 318 : 96-100.
- 9) Liu Y, Inoue M, Sobue T, et al. Reproductive factors, hormone use and the risk of lung cancer among middle-aged never-smoking Japanese women : a large-scale population-based cohort study. *Int J Cancer* 2005 ; 117 : 662-6.
- 10) Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med* 2004 ; 350 : 2129-39.
- 11) Paez JG, Janne PA, Lee JC, et al. EGFR mutations in lung cancer : correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science* 2004 ; 304 : 1497-500.
- 12) Shigematsu H, Lin L, Takahashi T, et al. Clinical and biological features associated with epidermal growth factor receptor gene mutations in lung cancers. *J Natl Cancer Inst* 2005 ; 97 : 339-46.
- 13) Soda M, Choi YL, Enomoto M, et al. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature* 2007 ; 448 : 561-6.
- 14) Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR, et al. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2010 ; 363 : 1693-703.
- 15) Weinstein IB, Joe A. Oncogene addiction. *Cancer Res* 2008 ; 68 : 3077-80 ; discussion 3080.
- 16) Tanaka T, Matsuoka M, Sutani A, et al. Frequency of and variables associated with the EGFR mutation and its subtypes. *Int J Cancer* 2009 ; 126 : 651-5.
- 17) 国民衛生の動向 2009. 東京 : 厚生統計協会, 2010.

教育講演

16. 呼吸器疾患の遺伝解析

萩原 弘一

Key words : GWAS, 家系解析, SNP, Homozygosity haplotype

1. 遺伝因子

多くの疾患は、遺伝因子の上に環境因子が加わって発症すると考えられている。疾患発症に直接関わる遺伝因子の同定は、疾患発症のメカニズムを明らかにするとともに、治療法開発に不可欠な情報となる。

疾患発症率に民族差が見られる場合、また、疾患発症に家族集積が見られる場合、遺伝因子の関与が強く疑われる。特に、同一地域に複数の民族が居住している地域では、環境因子が似通って来るため、疾患の民族差が遺伝因子の差として明確に認識できることが多いに違いない。

2. 遺伝因子と民族

西欧諸国では、しばしば複数の民族、人種が同一地域に居住している。その地方の医師は、複数の民族を同時に診察しているだろう。その場合、疾患の民族差、人種差は、医師の目にはっきりと映るはずである。これが、西洋で遺伝学が盛んな理由の一つと想像される。

日本は太平洋の島国であり、現代人が居住するようになった30,000年前から現在までのほとんどの期間、大陸から切り離されていた。蝦夷、熊襲など、歴史上様々な人々が出現するが、現代日本人の中に複数の民族を認識することは難しい。実際、単塩基多型(single nucleotide polymorphism : SNP)を用いた主成分分析(Eigenanalysis)では、遺伝学的差異は沖縄と本土との間にわずかに認められるのみであり、日本人を遺伝学的に均一な民族と断定しても、大きな誤りはなさそうである¹⁾。日本人のみを診察している日本人医師には、疾患の民族差を認識することは難しい。

それでは、日本人に特有な遺伝因子が関与している疾患はどのくらいあるのだろうか。これを考える上で、西欧民族における遺伝性疾患の研究結果は重要な情報になる。詳しい遺伝解析が行われている代表的な民族として、ドイツ系ユダヤ人(Ashkenazi Jew)の研究結果を示すこの民族では、多くの遺伝因子が民族特有の集積を示していることが分る(表)²⁾。日本人の「太平洋の孤島」という居住環境は、民族特異的な遺伝因子が集積しやすい環境である。おそらく

埼玉医科大学呼吸器内科

108th Scientific Meeting of the Japanese Society of Internal Medicine : Educational lecture : 16. Genetic analysis of the respiratory diseases.

Koichi Hagiwara : Department of Respiratory Medicine, Saitama Medical University, Japan.

表. Ashkenazi Jewの遺伝病.

主にメンデル遺伝病のうち劣性遺伝疾患について示す

病名	罹患率	人口中の保因者割合
Bloom症候群	40,000名に1名	110名に1名
Canavan病	6,400名に1名	38名に1名
ジストニア	不明	900名に1名
家族性自律神経障害	3,700名に1名	30名に1名
Fanconi貧血	32,000名に1名	89名に1名
Gaucher病 (I型)	900名に1名	10名に1名
ムコリビドーシスIV型	不明	100名に1名
Niemann- Pick病 (I型)	32,000名に1名	70名に1名
Tay- Sachs病	3,000名に1名	26~30名に1名
嚢胞性線維症	2,500名に1名	25~29名に1名
非症候性難聴 (DFNB1)	1,600名に1名	20名に1名
非古典的副腎過形成	27名に1名	3名に1名

日本にも、多数の日本人特有の疾患が隠れているに違いない。

3. 民族差のある呼吸器疾患

本稿は呼吸器疾患を対象としている。民族差の見られる呼吸器疾患にはどのようなものがあるだろうか。他国と比較し、日本人に特に多く見られる疾患として現在明確になっているものは、びまん性汎細気管支炎³⁾、gefitinib (イレッサ[®]) に代表される薬剤性肺障害⁴⁾、そして特発性肺線維症急性増悪⁵⁾が挙げられる。

びまん性汎細気管支炎は、特徴的な病理像、臨床症状と、エリスロマイシンにより寛解状態になることからその診断は難しくない。そして、日本、韓国など東アジアに限定した疾患であることが確立されている。イレッサ[®]の薬剤性肺障害も、全世界レベルで収集された副作用報告により、ほぼ日本に限定した疾患であることが確立されている。特発性肺線維症急性増悪に関しては、相当に民族差がありそうだが、明確な民族差としては確立されてはいない。特発性肺線維症の診断が、病理、画像とも世界で統一しきれておらず、さらに急性増悪の画像所見が、肺炎や肺水腫のものと極めて類似し、しばしば正

確な診断が困難だからである。しかし、海外の研究者との多くの意見交換により、多くの研究者は特発性肺線維症急性増悪の発症率、重症度には明確な民族差があると考えている。特発性肺線維症急性増悪は、疾患遺伝子を同定したあと、疾患を疾患遺伝子の有無で再分類し、その結果として民族差を確認する、という遺伝学的アプローチを経ないと、民族差の比較自体が不可能かもしれない。

4. 遺伝解析手法

現在使用されている遺伝解析手法は大きく3つに分けられる。全ゲノム関連解析 (genome-wide association study : GWAS)⁶⁾、家系解析⁷⁾、そして次世代シーケンサーを利用した手法である⁸⁾。GWASは、集団の中に広く共有される (集団内頻度5~10%以上) 多型に使用される。検出される変異は遺伝的効果が低いものが多く、「体質」に関与する多型を検出する手法と言っても良いかもしれない。家系解析は、家系集積を示す変異を検出する手法である。結果として、家族内集積を示すような効果の強い、集団内頻度の低い(1%以下)変異を検出することが多い。両方とも、多大な成功を収めて来たが、多くの

疾患において、「帯に短し、たすきに長し」であることも否めない。多くの疾患で、GWASで必要とされる1,000例を超える被験者サンプルを収集することは困難である。また、多くの疾患で、家系解析が必要とされる「複数の患者を有する大家族」を見つけることは困難である。

次世代シーケンサーを用いた手法はこれらの間を埋める手法になるかもしれない。次世代シーケンサーを用い、全エクソンの配列を決定し、異常塩基配列を見つける手法である。しかしながら、膨大な情報には膨大な誤差が伴う。次世代シーケンサーによるデータには、必然的に多くのシーケンスエラーが伴う。遺伝子コード領域内の多型も多数ある。一つの疾患と考えていた疾患が複数の疾患の集合体である場合は、解析は困難なものになるだろう。何らかの既存の手法で染色体領域を絞り込み、絞り込んだ領域を次世代シーケンサーで精査する、という2段階の手法が現実的と思われる。

5. ホモ接合ハプロタイプ法

疾患遺伝子同定において、直近の共通先祖(most-recent common ancestor: MRCA)を仮定する手法は有力である(図1A)。全ての家系解析、および一部のGWAS解析はこれを仮定する。2名の同一の疾患を有する患者を考えよう。2名の患者が共通の先祖からの遺伝因子を受け継いだために同一疾患を発症したと考えることは、特に2名の患者が親戚、または同一地域出身などの場合、有力な作業仮説となりうる。2名の患者の染色体DNAを比較し、一名の共通先祖から由来したと思われるほど似ている場所が見つかれば、その領域に疾患遺伝子が存在する可能性が高い。

2名の患者の染色体DNAを比較するには単塩基多型(single-nucleotide polymorphism: SNP)を使用する。SNPは2つの型を取る多型である。一方をA型、もう一方をB型とすると、染色体は

A, Bの列として表現できる(図1B)。2名の患者で一つの染色体部位が十分に長い区間、同一のA, Bの並びを持っていたら、その区間は一人のMRCAから由来している可能性が高い。よって、その領域を精査し、疾患遺伝子を探索する。

ここで、人が二倍体生物であることが問題になる。人は各染色体を2本ずつ持つ。SNPを検出する場合、2本の染色体のSNPが同時に検出される。すなわち、SNPはAA, AB, BBの3種類のいずれかとして検出される。一本毎の染色体のSNP型が不明なため、このままでは染色体の比較は不可能である(図1C)。何らかの工夫が必要になる。

最も簡単な手法は、ABの部分は無いものとして消去することである。AAまたはBBの部分のみ残るが、AAの場合は2本の染色体ともSNP型はA, BBの場合はBであることは自明なので、2名の患者の染色体を直接比較することが可能になる。片方がABのため消されてしまった部分は比較時には無視する。このようにして得たSNP型をホモ接合ハプロタイプと呼ぶ(図1D)⁹⁾。

ホモ接合ハプロタイプを用いると、家系解析が簡単にできる(図2)。優性遺伝子、劣性遺伝子双方の解析が可能である。複数の疾患を有する大家系は、一人の共通先祖から疾患遺伝子が由来している。この家系ではI-1が共通先祖である。患者間で共有されている染色体断片に疾患遺伝子が存在する。

対象が劣性遺伝子の場合はさらに効率的な解析ができる。ホモ接合ハプロタイプ法とホモ接合マッピングとを組み合わせたHM on HH法では、わずか2名の患者のサンプルから1 M base程度の範囲に疾患遺伝子候補領域を狭めることが可能である(図3)。また、6名の患者を含んだ60名の集団から、その6名を同定し、さらに疾患遺伝子領域を同定することも可能である。ここまで領域を狭めることができたなら、次世代シーケンサーで当該領域を精査することはそれほど難しくないだろう。

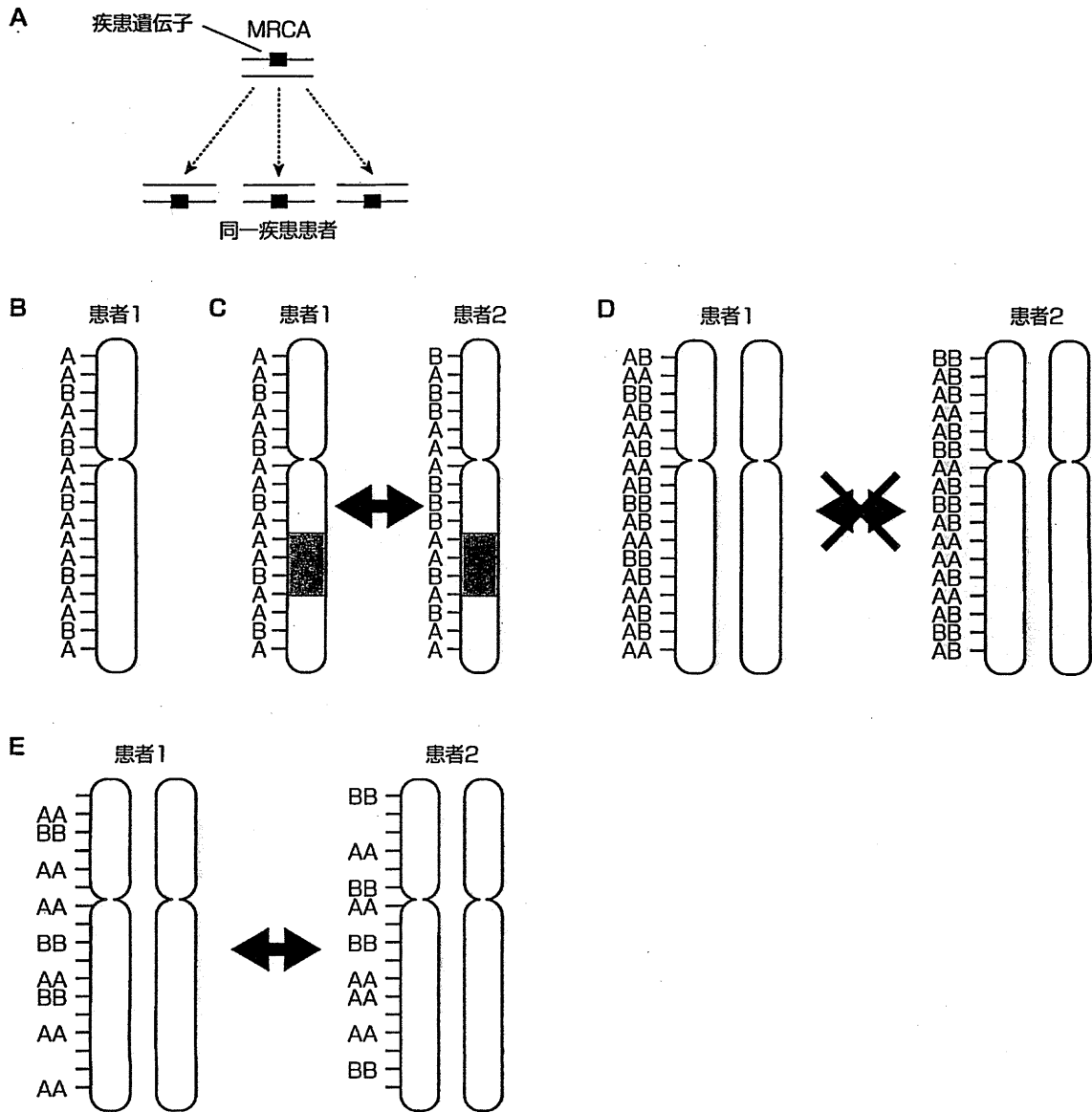


図 1. ホモ接合ハプロタイプ法解析

A. 共通祖先。一人の祖先に生じた異常遺伝子が、現在の患者に伝わって疾患を生じていると考える。B. 一本の染色体上のSNP型の並び。C. 2名の患者の2本の染色体の比較。灰色部分のSNP型の並び（ハプロタイプ）が一致している。D. 実際の染色体。2本ある相同染色体のSNP型が重複して検出される。E. ホモ接合ハプロタイプ。“AB”の部分を消去すると、ハプロタイプの比較が可能になる。比較可能なSNPの数は減るが、現在の全ゲノムSNP検索アレイは十分多数のSNPを検索するので、少々減っても問題ない。

6. 呼吸器疾患の遺伝解析

前記のように、呼吸器疾患には民族差が明確な疾患がある。また、COPDや喘息などの「良く

ある疾患」でも、その原因となっている遺伝子の種類、頻度には大きな違いがあるに違いない¹⁰⁾。遺伝因子が明確になっている呼吸器疾患は、肺胞微石症などメンデル遺伝形式を示す一部の疾患に過ぎない¹¹⁾。呼吸器疾患の多くは、それほど

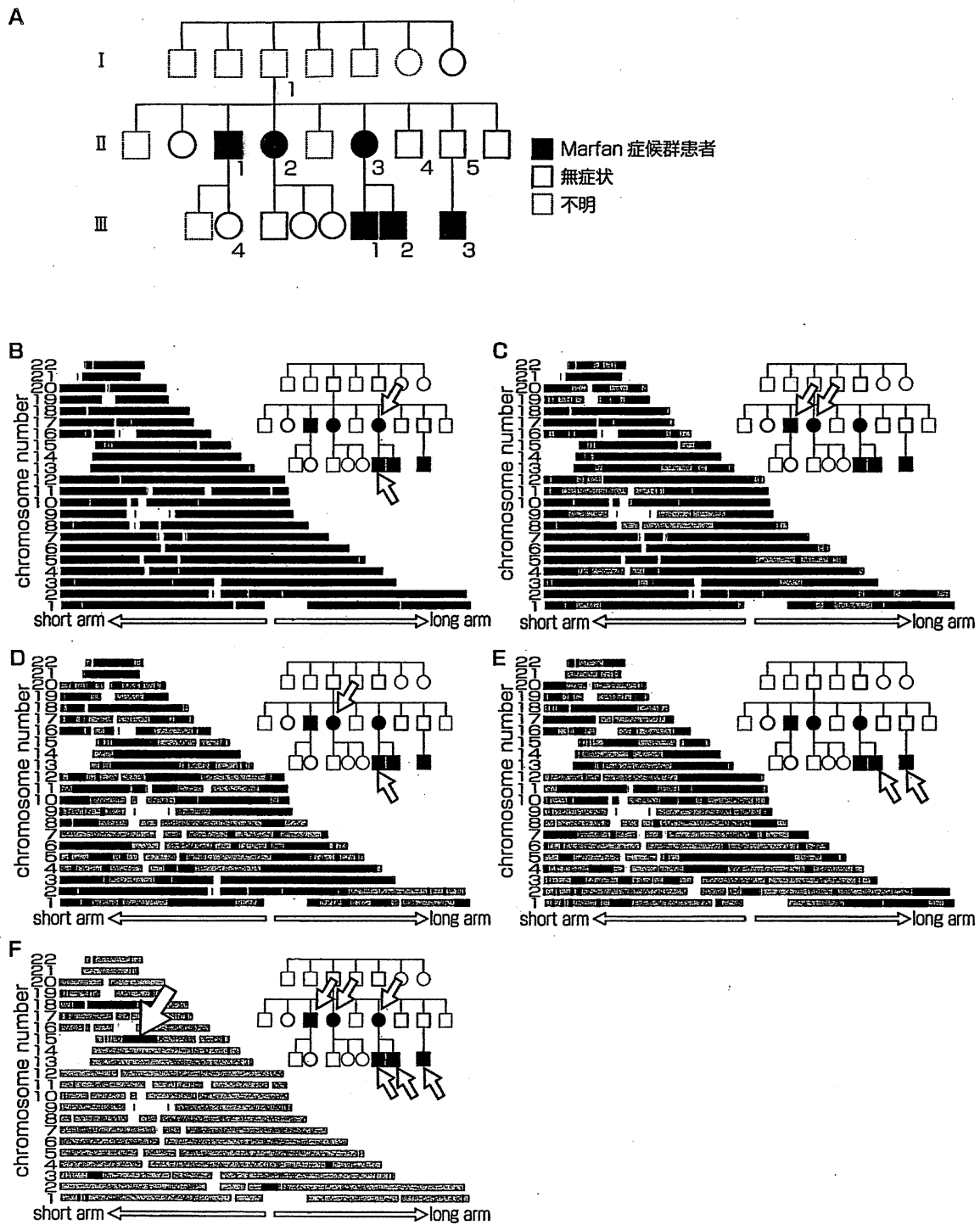


図2. Marfan症候群家系解析⁹⁾

A. 解析家系。B-F. 家系図中に矢印で示した患者のホモ接合ハプロタイプ解析。B：親子。親子ではホモ接合ハプロタイプは完全に一致する。C：兄弟。D：伯母-甥。E：いとこ。F：複数患者で共通するホモ接合ハプロタイプ領域。Marfan症候群の責任遺伝子FBN-1の存在領域を大矢印で示した。

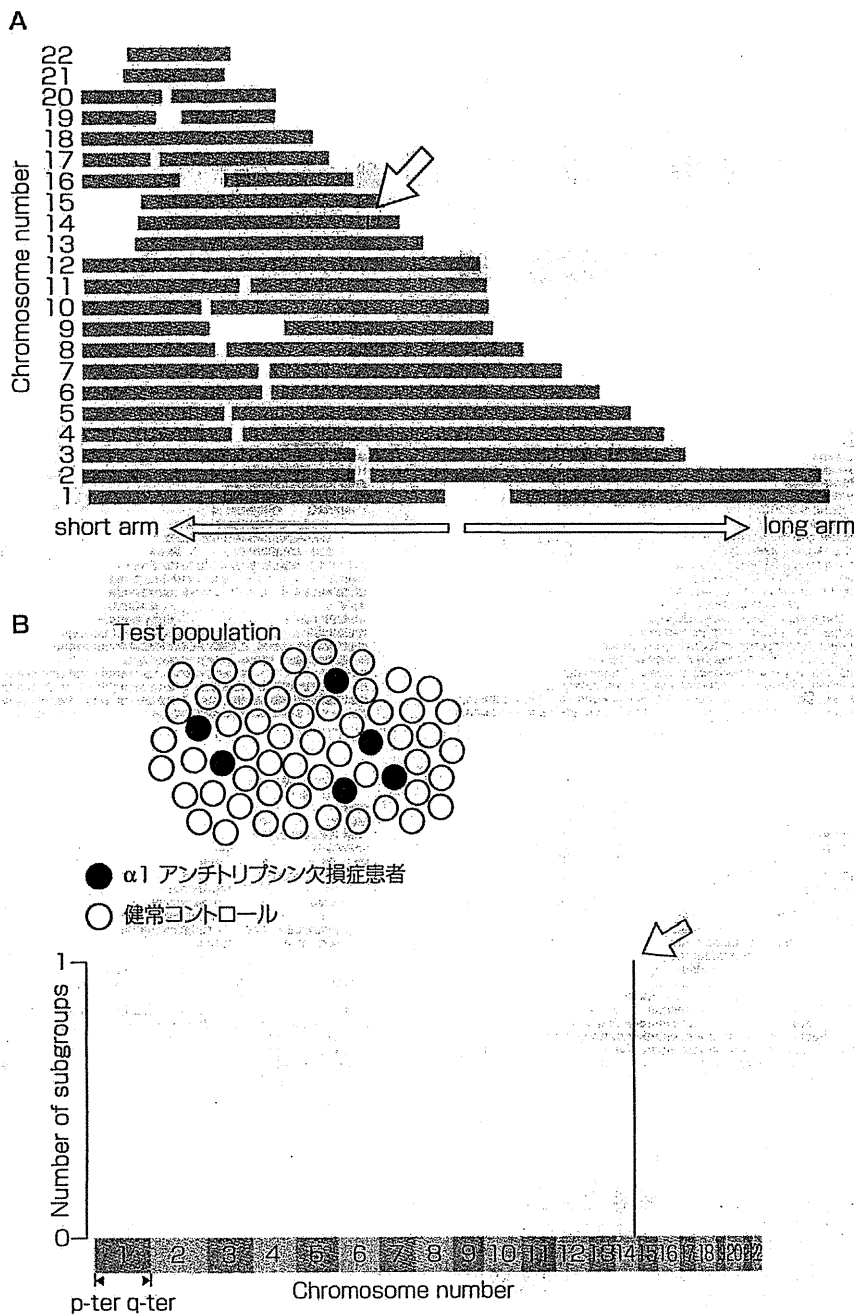


図3. HM on HH法

A. ペア解析. 2名の $\alpha 1$ アンチトリプシン欠損症患者で共通祖先由来の染色体断片を検索した. 黒い領域がHM on HH法による候補領域. 矢印が $\alpha 1$ アンチトリプシン欠損症疾患遺伝子SERPINA1の存在部位. B. 集団解析. 60名中に6名の患者を含む集団を解析. この集団では6名が共通祖先由来の染色体断片を有すること. その断片がSERPINA1を含む領域にあることが検出できている.

疾患頻度が高くないため、多数の症例を集積することは容易ではない。それらを解析する方法論の開発を進めて来たが、ようやく実際の解析が可能になって来たと考えている。今後、疾患遺伝子の解明を通じて、疾患発症機構の解明、治療法の開発が、多くの疾患で可能になることを期待したい。

著者のCOI (conflicts of interest) 開示：萩原弘一：講演料 (アストラゼネカ)

文 献

- 1) Yamaguchi K, et al: Japanese population structure, based on SNP genotypes from 7003 individuals compared to other ethnic groups: effects on population-based association studies. *Am J Hum Genet* 83: 445-456, 2008.
- 2) Charrow J: Ashkenazi Jewish genetic disorders. *Fam Cancer* 3: 201-206, 2004.
- 3) Kudoh S: Erythromycin treatment in diffuse panbronchiolitis. *Curr Opin Pulm Med* 4: 116-121, 1998.
- 4) Kudoh S, et al: Interstitial lung disease in Japanese patients with lung cancer: a cohort and nested case-control study. *Am J Respir Crit Care Med* 177: 1348-1357, 2008.
- 5) Kondoh Y, et al: Acute exacerbation in idiopathic pulmonary fibrosis. Analysis of clinical and pathologic findings in three cases. *Chest* 103: 1808-1812, 1993.
- 6) Hardy J, Singleton A: Genomewide association studies and human disease. *N Engl J Med* 360: 1759-1768, 2009.
- 7) Lathrop GM, et al: Strategies for multilocus linkage analysis in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 81: 3443-3446, 1984.
- 8) Ng PC, et al: Genetic variation in an individual human exome. *PLoS Genet* 4: e1000160, 2008.
- 9) Miyazawa H, et al: Homozygosity haplotype allows a genomewide search for the autosomal segments shared among patients. *Am J Hum Genet* 80: 1090-1102, 2007.
- 10) Gunji Y, et al: Mutations of the Birt Hogg Dube gene in patients with multiple lung cysts and recurrent pneumothorax. *J Med Genet* 44: 588-593, 2007.
- 11) Huqun Izumi S, et al: Mutations in the SLC34A2 gene are associated with pulmonary alveolar microlithiasis. *Am J Respir Crit Care Med* 175: 263-268, 2007.

肺癌診療

Q&A

一つ上を行く診療の実践

【編著】弦間昭彦 日本医科大学主任教授

EGFR 遺伝子変異検査法とそれぞれの違いについて 教えてください

EGFR 遺伝子変異陽性患者では gefitinib 投与により著明な生存期間の延長がみられることが明らかにされ^{1,2)}、EGFR 遺伝子変異の有無を確認してから非小細胞肺癌の治療方針を決定することが非小細胞肺癌診療の常識となった。

2010年6月時点において、日本の進行非小細胞肺癌患者の2/3においてEGFR 遺伝子変異検査が行われている（遺伝子変異検査の商業受託数より）。同時点で日本で施行されているEGFR 遺伝子変異検査は、PNA-LNA PCR clamp 法、PCR invader 法、Cycleave 法の3種がある。また、海外では Scorpion ARMS 法を用いたキットが販売されている。本稿ではこれら4種の検査に関して記述する。

上記4種の検査に関してまとめると以下のようになる。

- ① 細胞数で1%以上の癌細胞を含んでいる臨床検体を用いてEGFR 遺伝子変異の有無を検索できる。
- ② 主要なEGFR 遺伝子変異を検索できるとともに、まれな変異も検索できるよう工夫を凝らしている。
- ③ 良好な品質のDNA（凍結した組織、細胞診検体）を用いた場合、上記4種はいずれも良好な結果を出す。品質の劣ったDNA（固定から2年以上経過した古いホルマリン固定標本、古いパラフィン包埋標本）を使用した場合、陽性結果が得られないことや（偽陰性）、判定が不能なこと（検体不良）がある。

以下に詳しく記述する。

上記4種の検査は、いずれも高感度法とよばれる検査法であり、正常細胞と癌細胞が混ざった臨床検体を用いてEGFR 遺伝子変異の有無を検索できる。各検査とも、EGFR 変異のうちよくみられる変異をすべて含んでいる。さらに、まれな変異も検出できるよう、各社とも工夫を凝らしている。どの検査も、臨床で問題となるほぼすべてのEGFR 遺伝子変異を検出可能といってよい。

肺癌診療で採取される病理検体、細胞診検体を病理医が観察し、癌細胞が含まれていると診断した検体は多くの場合、細胞数で1%以上の癌細胞を含んでいる³⁾。4種の検査は、いずれも1%の癌細胞を含む検体から、EGFR 遺伝子変異を検出することが可能である⁴⁾。よって実際の検査では、病理検査で癌細胞を確認した検体を提出すれば、良好な検査が行えると考えてよい（図1）。

検査会社は、10ng（ナノグラム）以上のDNA（細胞数で1600個分のDNA）を用いて検査を行う。1%の癌細胞を含んでいる検体から100個の細胞を採取しても、そのなかに癌細胞が1個含まれる可能性は63%しかない。細胞数で1600個分を使用すれば、癌細胞が含まれる可能性は99%以上になる。確実に癌細胞由来のDNAを検査するためには、細胞数で1600個分のDNAが必要である。通常の臨床検体は、これよりはるかに多くの細胞を含んでいるため、検体採取時に心配する必要はない。

ホルマリン固定はDNAを分断化する。さらにパラフィン包埋で長期間（2年以上）保存すると、

化学変化により塩基置換が起こったDNAが増加する(図2)。ホルマリン固定した検体より、単に凍結保存した組織、または細胞診検体のほうが、短期保存でも長期保存でもDNAは良好な状態に保たれる。凍結保存は、生食に懸濁したサンプルを冷凍庫で凍結するだけでよい。EGFR遺伝子変異検査には、可能な限り凍結保存検体を提出したい。

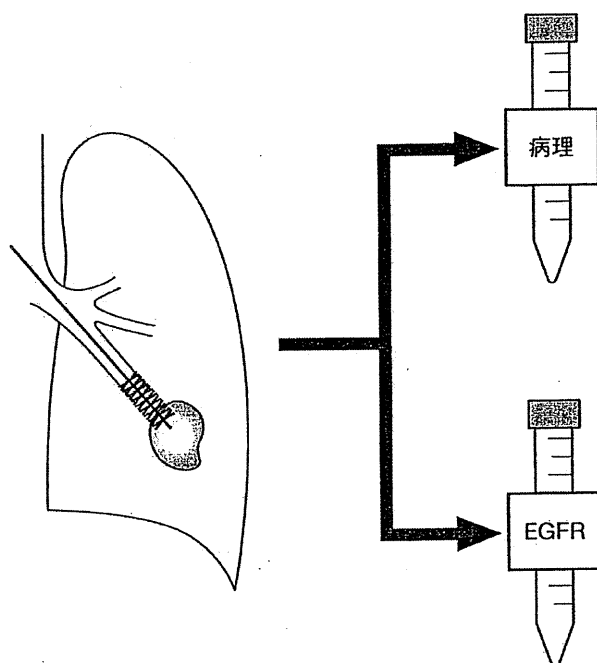


図1 検体提出手順

検体をよく混ぜた後2つに分け、病理検査で一方に癌細胞が含まれていることを確認した後、他方をEGFR遺伝子変異検査に提出する。

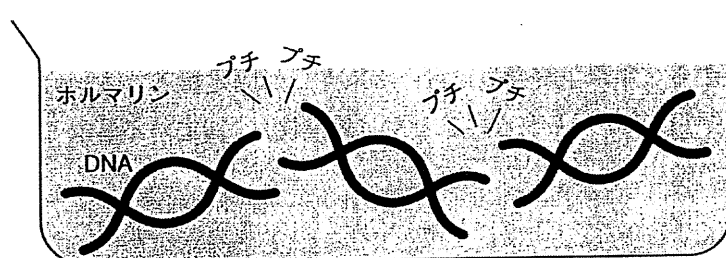


図2 ホルマリン固定標本

ホルマリン固定標本、パラフィン包埋標本ではDNAに傷がついていることが多い。可能な限り、凍結保存標本、凍結保存細胞診検体を提出したい。

■文献

- 1) Maemondo M, et al. Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR. N Engl J Med. 2010; 362: 2380-8.
- 2) Mitsudomi T, et al. Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJTOG3405): an open label, randomised phase 3 trial. Lancet Oncol. 2010; 11: 121-8.
- 3) Tanaka T, et al. Reliability of the peptide nucleic acid-locked nucleic acid polymerase chain reaction clamp-based test for epidermal growth factor receptor mutations integrated into the clinical practice for non-small cell lung cancers. Cancer Sci. 2007; 98: 246-52.
- 4) Goto K, et al. 2010 ESMO 発表

〈萩原弘一〉

PS 不良例の化学療法の適応を教えてください。 また工夫していることがあれば教えてください

肺癌は増加傾向にあるが、その 80 % 程度を占める非小細胞肺癌では発見時に実に約 30 ~ 40 % の症例が Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) の performance status (PS) 2 であるとも報告されている¹⁾。PS は重要な予後規定因子であり、PS 不良例は治療による重篤な有害事象の合併率が高いために適切な治療の判断が不可欠である。ここでは PS 不良肺癌例の化学療法の適応について、臨床試験の成績だけにとらわれずより実践的に考えていきたい。

1 PS 不良の肺癌症例において、第一に留意すべきこと

いうまでもなく、まずは客観的に PS を評価することが重要である。一般的には ECOG の PS 表 (表 1) が用いられているが、PS 不良の原因は、肺癌自体の進行、年齢や合併症、さらに精神的要因など様々な理由が考えられるので、常に配慮する必要がある²⁾。

PS 不良例を対象とした場合に、一応 PS 2 症例が化学療法の対象となりうる。しかし肺癌の進行程度、年齢や合併症などの観点から heterogenous な集団であり、プラチナ併用療法か単剤療法か、あるいは緩和療法がよいのかを慎重に考えることが重要である。

PS 3-4 症例には、重篤な有害事象および副作用死の懸念から少なくとも細胞障害性薬剤での化学療法は考慮すべきではない。化学療法を施行することが有害事象や QOL の観点から逆に患者にとって不利益と考えられる場合には、緩和療法を選択すべきである。ただしがんによる疼痛などから PS 不良になっている場合もあり、この場合放射線治療や疼痛対策で PS が回復する場合もあるので留意する必要がある。また詳細は後述するが、PS 不良症例でも、EGFR 遺伝子変異陽性の非小細胞肺癌なら EGFR チロシンキナーゼ阻害剤 (EGFR-TKI) による治療を念頭におきたい。

表 1 ECOG Performance Status 分類

- | | |
|---|--|
| 0 | 無症状で社会活動ができ、制限を受けることなく、発病前と同等にふるまえる |
| 1 | 軽度の症状があり、肉体的労働は制限を受けるが、歩行、軽労働や坐業はできる。
たとえば軽い家事、事務など。 |
| 2 | 歩行や身のまわりのことはできるが、時に少し介助がいることもある。軽労働はできないが、日中の 50 % 以上は起居している |
| 3 | 身のまわりのある程度のことではできるが、しばしば介助がいり、日中の 50 % 以上は就床している。 |
| 4 | 身のまわりのこともできず、常に介助がいり、終日就床を必要としている |

2 細胞障害性抗癌剤での化学療法

a) 非小細胞肺癌

一般的に非小細胞肺癌における初回化学療法の臨床試験の対象は、PS 0-2 とされていることが多く、PS 2 であれば化学療法の対象となり得る。2010年肺癌学会ガイドラインでも、EGFR 遺伝子変異陽性または陰性にかかわらず、PS 2 症例には化学療法の施行が推奨されている（グレードA）。EGFR 遺伝子変異陰性症例が細胞障害性薬剤の対象になるが、プラチナ併用療法か単剤療法かの選択は、臨床試験のエビデンスがまだ少なく個々の症例によって慎重に検討すべきである¹⁾。また前述したように、症例によっては緩和治療も十分考慮しなければならない。

実地臨床のプラチナ併用療法としては、シスプラチン併用療法よりはやはりカルボプラチン併用療法のほうが使用しやすい。本邦では従来からカルボプラチン+パクリタキセル療法が頻用されており、実際 PS 2 症例を対象にしたいくつかの臨床試験でこのレジメンが検討されている。しかしこの投与方法ではしびれや関節痛などが PS 不良例において問題になり、パクリタキセルの分割投与方法なども最近検討されている。また単剤療法としては、第3世代といわれるドセタキセルやビノレルビンなどが中心になる。非小細胞肺癌に一昨年適応になったペメトレキセドは有害事象が比較的軽度であることが報告されており、プラチナ併用の可能性も含め PS 不良の非扁平上皮癌症例における有効性も今後検討されるべき課題である。

b) 小細胞肺癌

PS 不良の限局型（LD）症例では、化学放射線併用療法は難しい。2010年のガイドラインでは、「PS 不良（3-4）限局型小細胞肺癌に対する治療法として、少なくとも化学療法を行うよう勧められる」とされている（グレードB）。ただし当然のことながら、PS 3-4 症例への化学療法の適応は慎重に決めるべきである。治療が可能と判断された場合には、化学療法と放射線療法（または放射線療法と化学療法）の逐次療法、あるいはどちらかの単独療法が考慮される。例えば気道狭窄が著しい症例などでは緩和的に放射線治療を先行、状態が許せば終了後に化学療法を施行することもある。また化学療法が先行できて腫瘍がかなり縮小すれば、狭い範囲に絞って放射線療法も追加するなどの方針もあり得る。このように LD 症例では気道や大血管の近傍に病変があって PS を悪化させている場合も多く、個々の症例ごとによく検討が必要である。また進展型（ED）症例では PS 3 までの症例で過去に臨床試験が行われたことから、肺癌診療ガイドライン（2005年版）でも PS 3 までが化学療法の適応とされている（2011年2月現在において、小細胞肺癌 ED 症例についてのガイドライン改訂版はまだ発表されていない）。しかし LD 症例と同様に、PS 3 症例への化学療法の適応は慎重に判断すべきである。

小細胞癌においてはいまだにシスプラチン療法のほうがエビデンスレベルとしては高く、可能ならば LD 症例ではシスプラチン+エトポシドを、また ED 症例ではシスプラチン+塩酸イリノテカンの適応を考えたい。ただし実地臨床においては、PS 不良例ではやはりシスプラチン療法が難しい場合も多い。その場合には JCOG 9702 試験の結果もあり、カルボプラチン+エトポシドが使用しやすいレジメンと考えられる。カルボプラチン+塩酸イリノテカンや初回単剤療法のエビデンスはまだ少ない。

c) 二次療法以降について

非小細胞癌および小細胞癌とも、二次療法以降は一次療法後の有害事象を含めた症状や PS 低下度

などを総合的に検討して、継続の必要性を判断していくべきである。

3 分子標的治療剤での治療：EGFR 変異陽性の非小細胞肺癌について

PS 不良の非小細胞肺癌例でも、EGFR 遺伝子変異が陽性なら EGFR-TKI による治療を考慮できる。PS 不良例では気管支鏡検査などの適応が厳しい場合もあり得るが、喀痰や胸水から検査するなどできるかぎり変異検査を施行すべきである。

陽性例においてゲフィチニブと従来の化学療法を比較した NEJ 002 試験³⁾ や WJTOG 3405 試験⁴⁾ でもゲフィチニブの初回治療の有用性が示されており、いまや実地臨床での PS 2 症例の初回治療として十分考慮されるべきである。また全身状態がさらに悪い PS 3-4 症例においては、従来の支持療法のみでは生存期間中央値が 4 カ月以下であった。しかしながら PS 不良の変異陽性例 (80 歳以上の PS 1 を含む) にゲフィチニブを投与した場合には生存期間中央値が 17.8 カ月であり、さらに PS 3 以上の症例の 68 %において 2 段階以上の PS 改善があることが示された⁵⁾ (図 1)。2010 年のガイドラインでも、ゲフィチニブの投与が推奨されている (グレード B)。ただし PS 不良は薬剤性肺障害の危険因子であることが示されており、十分な同意説明をしておくことが重要である。

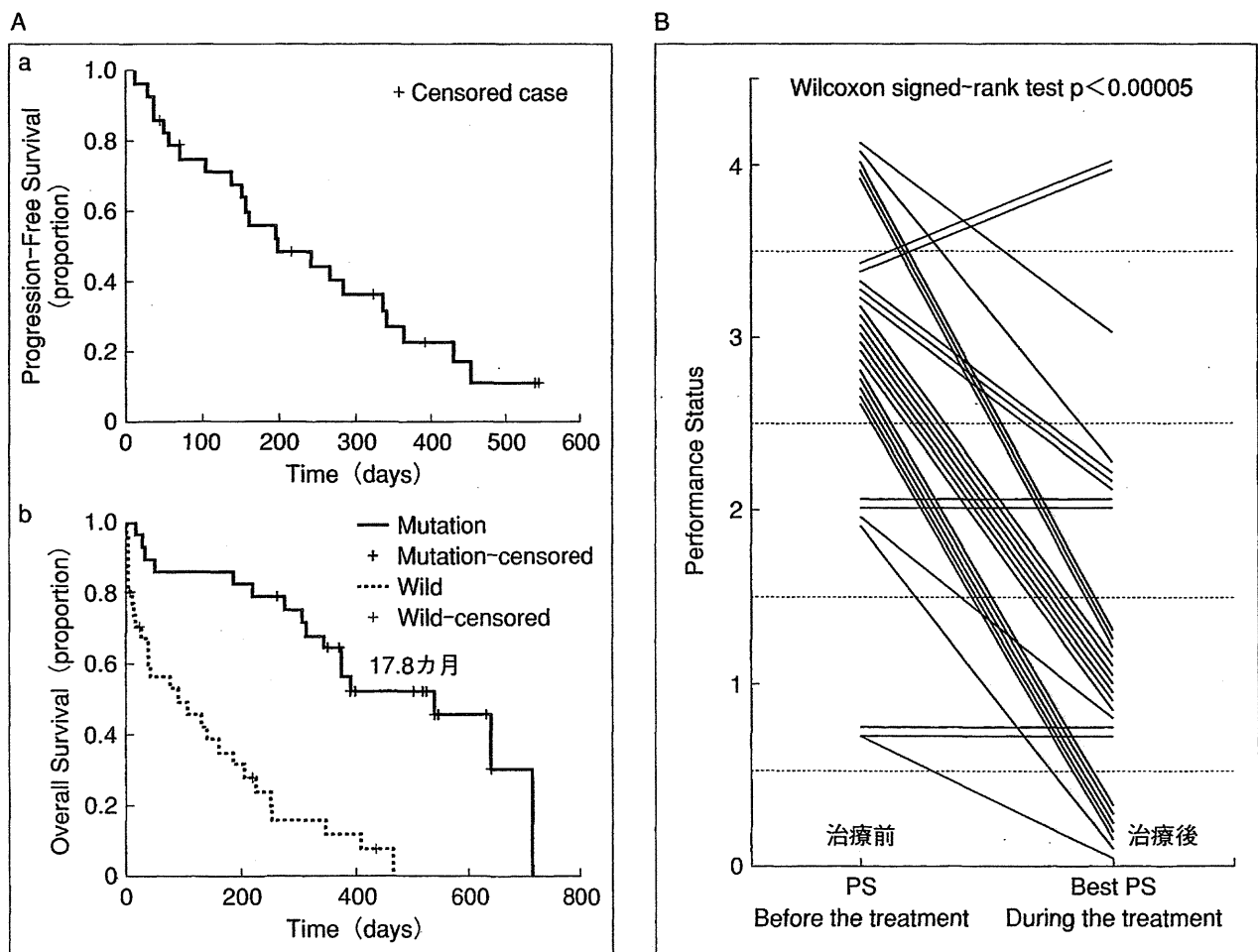


図 1 PS 不良の EGFR 変異陽性非小細胞肺癌におけるゲフィチニブ試験より

A: 全 PS 不良症例の生存期間中央値は 17.8 カ月であった。

B: 79 %の症例で PS が改善し、そのうち 68 %において 2 段階以上の PS 改善を認めた。

(文献 5)

4 患者および家族への説明と意思の確認の重要性

以上この章で説明したように、PSの評価、EGFR 遺伝子変異を含めた最終的な検査結果などを検討して、患者および家族への説明を経て化学療法の適応を決定する。PS 不良例の治療方針を決めることは、肺癌診療において難しい局面である。患者および家族の病状の理解や治療への意欲を踏まえて話し合いながら、最善の選択ができるように心がけたい。

おわりに

当施設での方針なども含めて、PS 不良の肺癌症例の化学療法をどのように方針づけしていくべきかを具体的に述べた。PS の客観的評価とともに PS 不良となっている原因を総合的に判断して、化学療法の適応を決めていく必要がある。

■文献

- 1) Gridelli C, Ardizzoni A, Le Chevalier T, et al. Treatment of advanced non-small-cell lung cancer patients with ECOG performance status 2: results of an European Experts Panel. *Ann Oncol.* 2004; 15(3): 419-26.
- 2) 久保田馨. 非小細胞肺癌に対する化学療法—PS2に関する考え方. *医学のあゆみ.* 2008; 224: 1098-101.
- 3) Maemondo M, Inoue A, Kobayashi K, et al. Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR. *N Engl J Med.* 2010; 24; 362(25): 2380-8.
- 4) Mitsudomi T, Morita S, Yatabe Y, et al. Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJTOG3405): an open label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2010; 11(2): 121-8.
- 5) Inoue A, Kobayashi K, Usui K, et al. First-line gefitinib for patients with advanced non-small-cell lung cancer harboring epidermal growth factor receptor mutations without indication for chemotherapy. *J Clin Oncol.* 2009; 27(9): 1394-400.

〈大泉聡史〉

呼吸器

シリーズ総監修

永井良三 東京大学教授

責任編集

萩原弘一 埼玉医科大学教授

編集

芦澤和人 長崎大学准教授

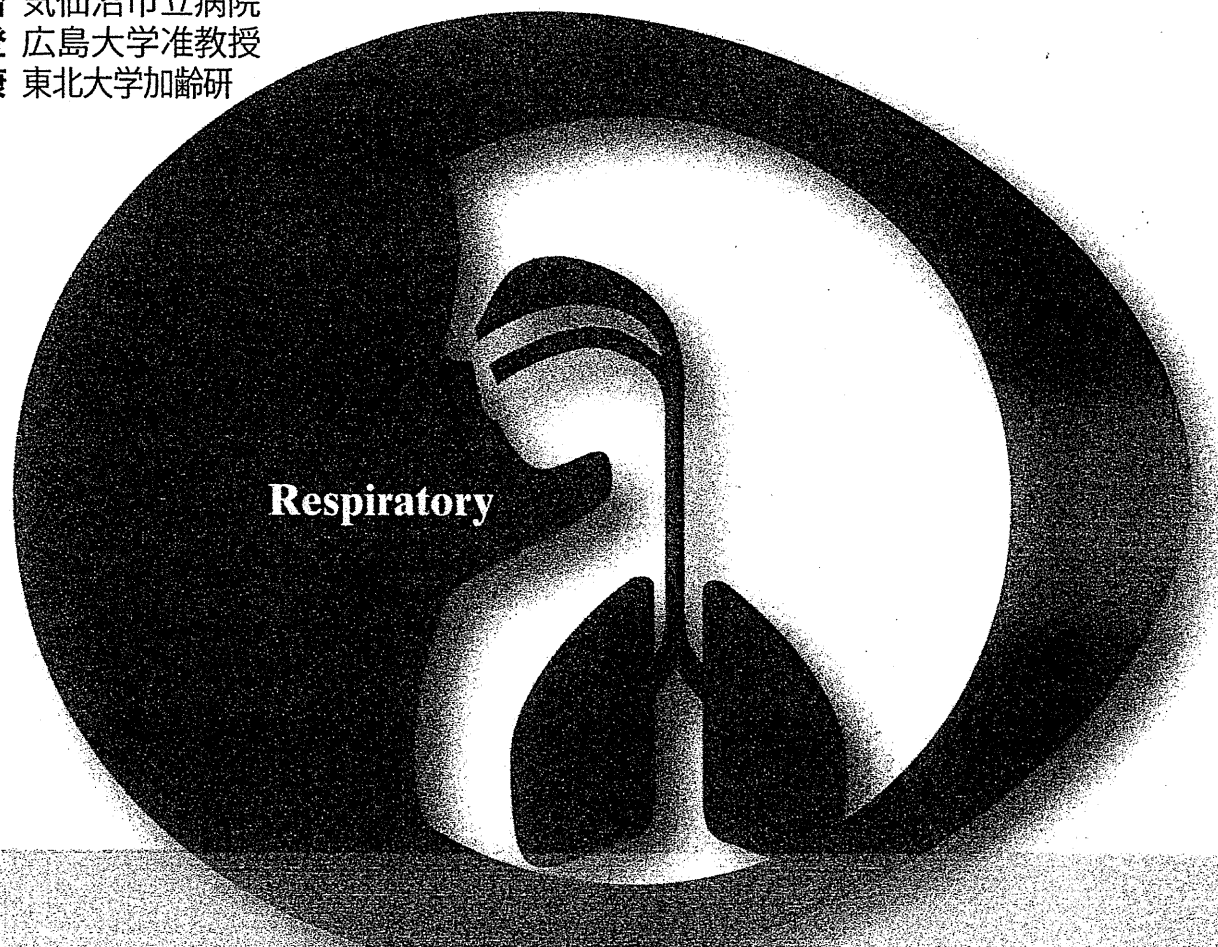
大泉聡史 北海道大学講師

冲永壮治 気仙沼市立病院

服部 登 広島大学准教授

星川 康 東北大学加齢研

研修ノート



呼吸器専門医をめざすなら知っておきたい

臨床現場の エッセンス 180

心構えから診断・治療、各種書類の書き方まで網羅



診断と治療社

1 原発性肺癌

Don't Forget!

- 肺癌はわが国の癌死亡原因の最多を占め、さらに増加傾向にある。
- 分子標的治療薬の導入、多くの臨床試験により治療法が進歩している。
- 最新のエビデンスを理解し、眼前の患者さんに最適な治療法を提供しなくてはならない。

1 総論

A 疫学

肺癌は、気管支及び肺胞上皮から発生する上皮性悪性腫瘍の総称である。厚生労働省の統計によると、わが国では2006年に63,200人あまりが肺癌で死亡しており、全癌死亡原因の約19%と最多を占めていた。性別にみると男性では癌死亡原因の第1位、女性では大腸癌、胃癌に次いで第3位であった。肺癌の年間罹患数は現在80,000～90,000人で年間死亡数の1.2～1.3倍と推定されており、このことは本疾患罹患者の生存期間が短く、予後不良な疾患であることを意味している。肺癌は罹患数、死亡数ともに増加傾向にあり、特に高齢者症例の増加が目立っている。

B 病因

肺癌の最大の原因は喫煙である。喫煙者の非喫煙者に比した肺癌罹患リスクは欧米では10倍以上とされるが、わが国では男性で3～5倍、女性で3～4倍とされている。また、組織別にみると、小細胞肺癌や扁平上皮癌は、腺癌に比し、喫煙の影響がより大きいとされる。喫煙指数(1日喫煙本数×喫煙年数)と肺癌罹患リスクの間には明らかな相関関係が存在する。禁煙をしても、肺癌罹患リスクが低下するには5～10年以上の期間が必要である。喫煙以外の原因としては、アスベスト曝露、大気汚染、

遺伝的素因などがある。アスベストの使用はすでに禁止されているが、曝露から肺癌発症までには10～20年以上の長期間を要することから、病歴聴取時に職業歴、アスベスト吸入歴の有無を確認することは大変重要である。アスベスト以外の職業関連因子としてはクロム、マスタードガス、コバルト、ヒ素などの曝露が肺癌の発症に関連している。

C 発生母地

肺癌の発生母地は、組織型によって異なる。即ち、小細胞肺癌は神経内分泌細胞、扁平上皮癌は基底細胞、腺癌は細気管支領域の気管支上皮細胞や、肺胞領域のⅡ型肺胞上皮細胞、クララ細胞などにそれぞれ由来すると考えられている。

D 肺癌検診

新規肺癌症例の半数以上は、診断時に手術適応のない進行期肺癌である。わが国では、早期発見・早期治療による肺癌死亡者数の減少を目的に、40歳以上を対象に胸部単純X線写真による年1回の肺癌検診が実施されている。40歳以上で6か月以内に血痰のあった場合、50歳以上で喫煙指数が600以上の場合を高リスク群とし、喀痰細胞診が合わせて実施される。現在の肺癌検診受診率は25%程度と必ずしも高くなく、受診率の向上が課題である。CTを用いた検診については現在検討が進められている。