

非小細胞肺癌の EGFR 蛋白過剰発現と遺伝子 増幅についての解析

山梨医科大学 第1病理
山梨医科大学 第2外科

鈴木潮人, 大井章史
高橋渉, 吉井新平

要旨: Epidermal growth factor receptor(EGFR)は receptor tyrosine kinases の erb-B family に属する膜貫通蛋白の一種であり, EGFR の過剰発現が癌の増殖, 浸潤, 転移における重要な役割を果たしている. 今回, 非小細胞肺癌における EGFR 蛋白過剰発現, 遺伝子増幅について検討したところ, 症例の 32.5% (67/206)に EGFR 蛋白過剰発現がみられた. EGFR 蛋白の異常発現を示す症例の 32.8% (22/67), 全体の 10.7% (22/206)において遺伝子の増幅を確認できた. 現在までに FISH 法を用いて EGFR 遺伝子増幅について検討した報告はないが, 今後 EGFR を標的とした治療に反応する患者を同定するうえで FISH 法を用いた評価が必要とされると考えられる.

キーワード: Epidermal growth factor receptor, fluorescence in situ hybridization, 非小細胞肺癌

はじめに

Epidermal growth factor receptor (EGFR)は receptor tyrosine kinases の erb-B family に属する膜貫通蛋白の一種である. EGFR の過剰発現は癌の増殖, 浸潤, 転移における重要な役割を果たしており, EGFR の過剰発現が非小細胞肺癌の予後不良因子であると報告されている. 現在 EGFR を標的とした治療が研究されているが, 治療対象の評価については確立されておらず, 今後

の研究課題である. 今回我々は免疫染色と FISH 法を用いて非小細胞肺癌における EGFR 蛋白過剰発現と遺伝子増幅について検討した.

材料と方法

1983年から1999年に山梨医科大学外科で切除された肺癌手術材料(腺癌138例, 扁平上皮癌63例, 大細胞癌5例)のホルマリン固定パラフィン包埋切片を対象として免疫染色, fluorescence in situ hybridization

(FISH)法を行った。免疫染色には抗EGFR抗体 (Novocastra, Newcastle, United Kingdom)を用いた。FISH法には第7番染色体セントロメア(7q11.1-q11.1, D7Z1 locus)とEGFR遺伝子座(7p12)を認識するプローブ (Vysis, Downers Grove, IL)を用いた。

結果

免疫組織化学的に陰性、細胞膜あるいは細胞質に弱陽性(1+)、細胞膜に中等度陽性(2+)、細胞膜全体に強陽性(3+)に分類した¹⁾。扁平上皮癌63例中、7例(11.1%)が3+、18例(28.6%)が2+を示した。腺癌138例中、17例(12.3%)が3+、25例(18.1%)が2+であった。大細胞癌で2+、3+を示す症例はみられなかった(表1)。免疫染色で2+以上の陽性を示した扁平上皮癌25例中、9例(36.0%)で遺伝子増幅が確認された(表2)。腺癌42例のうち、13例(31.0%)で遺伝子増幅がみられた(表3)。

考察

現在までに非小細胞肺癌の32%から47%にEGFR蛋白の異常発現が報告されている²⁾。今回の研究では非小細胞肺癌の32.5%(67/206)にEGFR蛋白過剰発現がみられ、過去の報告と矛盾しない。腺癌に比し扁平上皮癌においてEGFR蛋白過剰発現が高率に認められる傾向が

あるが、今回の対象は扁平上皮癌に比し腺癌症例が多かったため蛋白過剰発現率があまり高くなかったと考えられる。ShiraishiらのSouthern blottingを用いた報告では非小細胞癌の10/108例(9.3%)にEGFR遺伝子の増幅がみられた³⁾。ddPCR(double-differential polymerase chain reaction)を用いた研究では非小細胞肺癌の5/37例(13.5%)にEGFR遺伝子の増幅が確認されている⁴⁾。今回の研究ではEGFR蛋白の異常発現を示す症例の32.8%(22/67)、症例全体の10.7%(22/206)において遺伝子の増幅がみられ、過去の報告と矛盾しない。FISH法は遺伝子増幅を検索するうえで優れた手法であり、乳癌に対するHerceptin治療の対象を評価する為にも用いられている。現在までにFISH法を用いてEGFR遺伝子増幅について検討した報告はないが、今後EGFRを標的とした治療に反応する患者を同定するうえでFISH法を用いた評価が必要とされると考えられる。

参考文献

- 1, Goldstein NS, Armin M. Epidermal growth factor receptor immunohistochemical reactivity in patients with American Joint Committee on Cancer Stage IV colon

adenocarcinoma: implications for a standardized scoring system. *Cancer* 92: 1331-1346, 2001.

2, Brabender J, Danenberg KD, Metzger R et al. Epidermal growth factor receptor and HER2-neu mRNA expression in non-small cell lung cancer is correlated with survival. *Clin Cancer Res* 7: 1850-1855, 2001.

3, Shiraishi M, Noguchi M, Shimosato Y et al. Amplification of protooncogenes in surgical specimens of human lung carcinomas. *Cancer Res* 49: 6474-6479, 1989.

4, Reinmuth N, Brandt B, Kunze WP et al. Ploidy, expression of erbB1, erbB2, P53 and amplification of erbB1, erbB2 and erbB3 in non-small cell lung cancer. *Eur Respir J* 16: 991-996, 2000.

表 1

**Immunohistochemical detection of EGFR
in non-small cell lung carcinomas**

Histological type	No. of cases with EGFR expression				Total
	3+	2+	1+	-	
Squamous cell carcinoma	7 (11.1%)	18 (28.6%)	17 (27.0%)	21 (33.3%)	63
Adenocarcinoma	17 (12.3%)	25 (18.1%)	49 (35.5%)	47 (34.1%)	138
Large cell carcinoma	0 (0.0%)	0 (0.0%)	4 (80.0%)	1 (20.0%)	5
Total	24	43	70	69	206

表2

Correlation between EGFR overexpression and gene amplification

Squamous cell carcinoma (63 cases)

IHC	EGFR gene amplification		
	No. of negative cases	No. of positive cases	
		Low level	High level
2+	7 (38.9%)	9 (50.0%)	2 (11.1%)
3+	0 (0.0%)	0 (0.0%)	7 (100.0%)
Total	7 (28.0%)	9 (36.0%)	9 (36.0%)

表3

Correlation between EGFR overexpression and gene amplification

Adenocarcinoma (138 cases)

IHC	EGFR gene amplification		
	No. of negative cases	No. of positive cases	
		Low level	High level
2+	13 (52.0%)	8 (32.0%)	4 (16.0%)
3+	3 (17.6%)	5 (29.4%)	9 (52.9%)
Total	16 (38.1%)	13 (31.0%)	13 (31.0%)