

富田秀太^{1,2)}・高橋優太³⁾・佐藤博紀³⁾・諏澤 憲³⁾・松原岳大²⁾・森田瑞樹^{1,2)}・枝園和彦^{2,3)}・宗 淳一^{2,3)}・豊岡伸一^{2,3,4)}

1) 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科、2) 岡山大学病院バイオバンク
3) 岡山大学病院呼吸器外科、4) 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科臨床遺伝子医療学

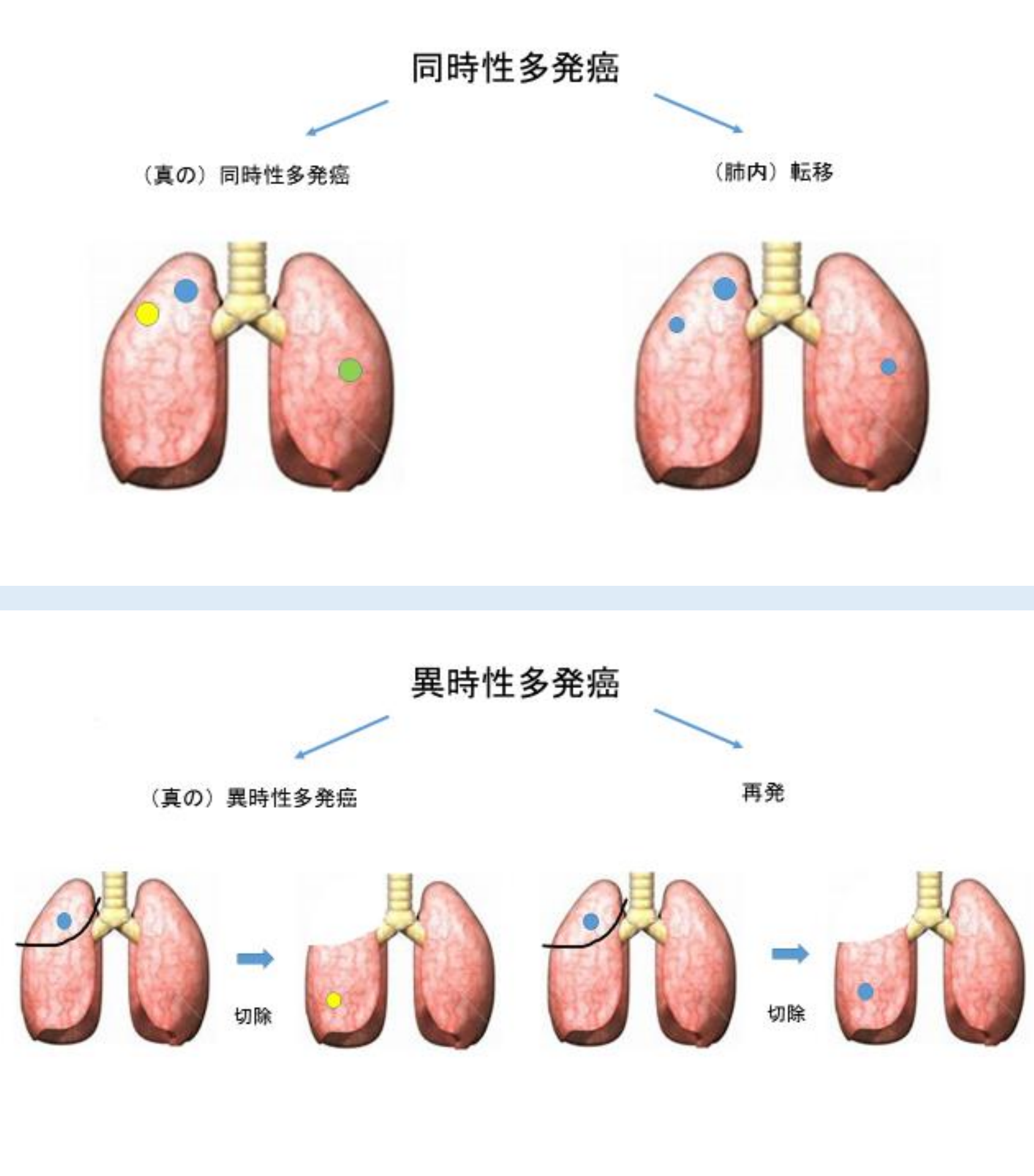
【背景】

がん治療において、原発と再発(転移)の見極めは極めて重要
最適な術式選択やsurveillanceのために鑑別が大事

【目的】

同時多発的・異時多発的に発症した肺癌の遺伝子変異プロファイル解析を行うことで、原発がん・再発(転移)がんの判定と、特徴的な遺伝子変異プロファイルの有無を解析した

【コンセプト】



【サマリー】

- 32項目に及ぶ詳細な臨床情報を取得
 - 病理医の診断を踏まえて、統合的に、同時多発肺がん、異時多発肺がん、再発・転移肺がんを判定
 - 同時多発肺がんでは、1症例でEGFR遺伝子変異プロファイルが一致していた
 - 異時多発肺がんでは、3症例でEGFR遺伝子変異プロファイルが一致していた
 - 再発・転移肺がんでは、5症例でEGFR, KRAS遺伝子変異プロファイルが一致していた
- 【今後の展開】
- 20遺伝子の遺伝子変異プロファイル解析を進め、同時多発肺がん、異時多発肺がん、再発・転移肺がんの遺伝子変異プロファイルの特徴を理解する

【サンプル】 2000年～2013年に岡山大学呼吸器外科にて根治的外科的切除を行った肺がん症例

【DNA抽出】 新鮮凍結サンプルからプロテイナーゼKで蛋白分解後にフェノール・クロロホルム法によりgDNAを抽出

【パネル】 GeneRead DNaseq Lung cancer panel (20遺伝子:対象遺伝子のwhole exon領域)

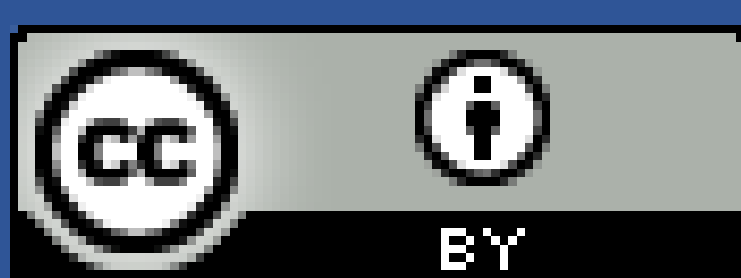
【ライブラリー作成】 GeneRead DNaseq Lung cancer panelを用いてターゲットエンリッチメント後に、GeneRead DNA Library Core/Adapter kitを用いてライブラリー作成

【ライブラリー定量】 後GeneRead Size Selection/ Amp Kitを用いたPCR増幅後にGeneRead Library Quant Arrayでライブラリー定量を実施(全てQiagen社)

【NGSデータ取得】 Illumina社MiSeqを用いて配列データを取得(V2シーケンス試薬を使用)

【解析】 GeneRead Targeted Exon Enrichment Panel Data Analysis (Qiagen社提供)

<http://ngsdataanalysis.sabiosciences.com/NGS2/>を用いて解析



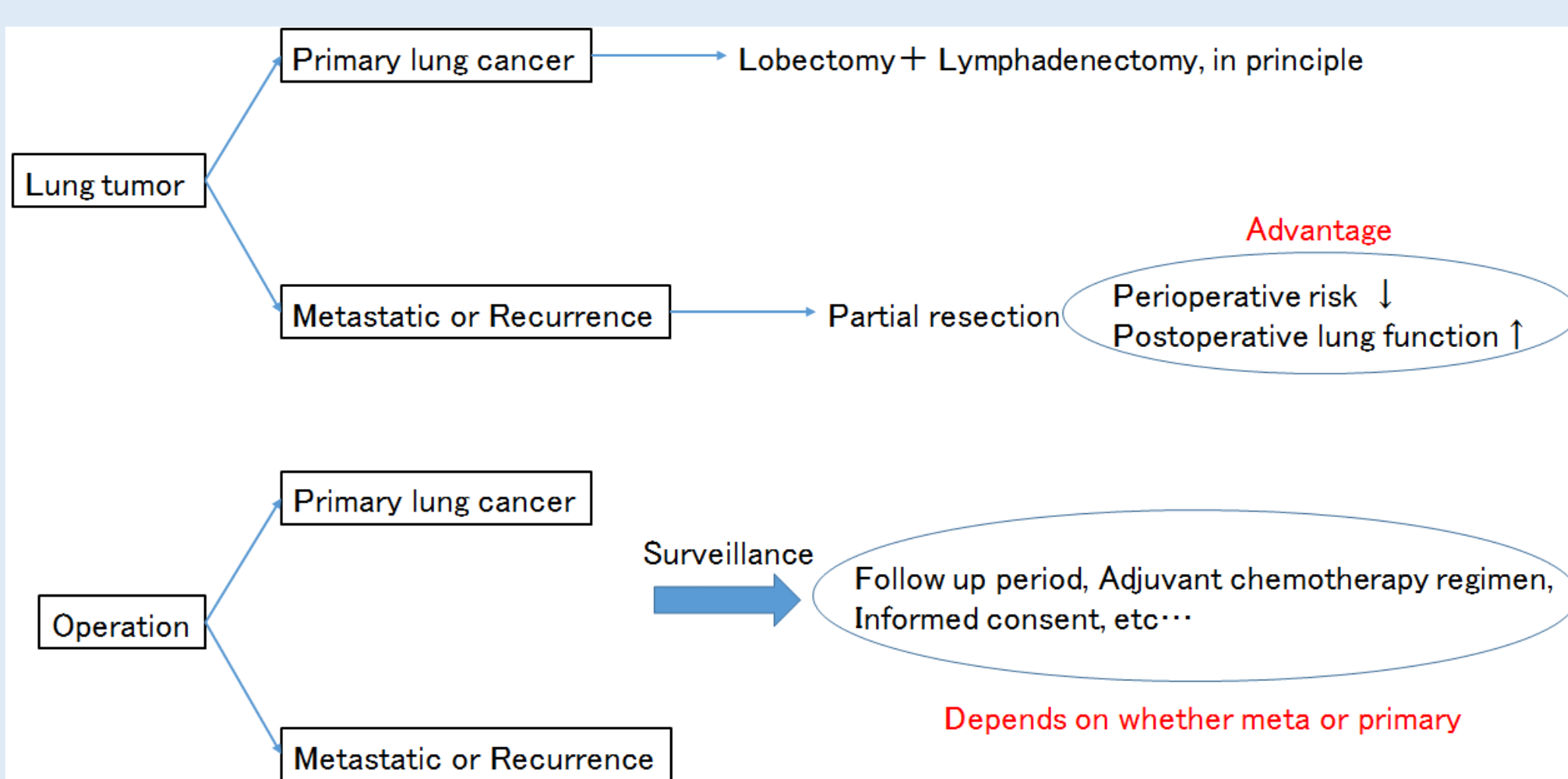
【詳細な臨床情報】

32項目に及ぶ詳細な臨床情報を付加 IASLC 8th edi.に対応している

項目	内容	症例1	症例2	症例3	症例4	症例5	症例6
1	ID						
2	性別	F	M	M	M	M	F
3	年齢	75	78	71	69	78	68
4	喫煙	never	former	former	former	current	never
5	標本番号						
6	cStage (TNM)	T1aN0M0	T1bN0M0	T1bN0M0	T1aN0M0	T3N1M0	T1aN0M0
7	solid part (cm)	0	0	1.6	0	7	1.7
8	total tumor size including GG (cm)	1.3	2.5	2.7	2	7	1.7
9	cStage	IA	IA	IA	IA	III A	IA
10	手術日						
11	op						
12	術式	partial	S6区域	seg	底区	RLL	RUL
13	左右	R	L	R	L	R	R
14	腫瘍部位(区域)	R2	L6	R1+2	L9	S6	R2
15	multiple GGO	Yes	No	No	Yes	No	No
16	Histology	Ad	Ad	Sq	Ad	xSqAd	Ad
17	Ad詳細①	Preinvasive lesions	Invasive adenocarcinoma		Invasive adenocarcinoma	Preinvasive lesions	Preinvasive lesions
18	Ad詳細②	non-mucinous	papillary		pap+lepidic	acinar+solid	AIS, non-mucinous (リンパ球目立つ)
19	脈管侵襲						
20	分化度	well	well	por	mod-well	moderate-por	well
21	腫瘍中心分葉形成				+	+(背景リンパ球, 球形細胞, 好中球目立つ)	+
22	上皮内癌像				+	-	+
23	細胞亜型	肺胞上皮II型	クララ		肺胞上皮	気管支上皮・気管支腺型	肺胞上皮~クララ?
24	p-noguchi	A	C		C	DE	B
25	判定		同時多発	同時多発	どちらかといえば同時多発		
26	pStage (TNM)						
27	pStage	IA	IA		IA	IIIA	IB
28	last followup						
29	survival	生	死	死	生	生	生
30	relapse	無	有	無	有	無	無
31	再発日						
32	DNA有無	有	有	有	有	有	有
32	備考		脈管侵襲や浸潤が互いに強くないので...		他病死		

【最適な術式選択のフロー】

原発がん症例・再発・転移がん症例の診断と臨床情報を統合した解析フロー



【解析対象の遺伝子リスト】

解析対象の20遺伝子

No.	Homo sapiens (hg19)_Gene	No.	Homo sapiens (hg19)_Gene	No.	Homo sapiens (hg19)_Gene	No.	Homo sapiens (hg19)_Gene
1	AKT1	6	EGFR	11	MET	16	PTEN
2	ALK	7	ERBB2	12	MTOR	17	PTGS2
3	BRAF	8	FIP1L1	13	NRAS	18	RB1
4	CDKN2A	9	KIT	14	PDGFRA	19	STK11
5	CTNNB1	10	KRAS	15	PIK3CA	20	TP53

【同時多発肺がんにおけるEGFR, KRAS変異と頻度】

症例ID	サンプルID	手術日	判定	Histology	EGFR_L858R	EGFR_Exon19del	KRAS_G12V/C
3				Ad			
				Ad			
				Ad			
7				Ad			
				Sq			
9				Ad			
				Ad			
27				Ad			
				Ad			
38				Ad			
				Ad			
47				Ad			
				Ad			
49				Ad			
				Ad			
55				Ad			
				Ad			
				Ad			
57				Ad			
				Ad			

【異時多発肺がんにおけるEGFR, KRAS変異と頻度】

症例ID	サンプルID	手術日	判定	Histology	EGFR_L858R	EGFR_Exon19del	KRAS_G12V/C
2				Ad			
				Ad			
8				Large			
				Ad			
10				Ad			
				small			
11				Ad			
				Ad/Sq			
22				Ad/Sq			
				Ad/ZBAC			
25				LCNEC			
				Ad			
29				Sq			
				Ad/ZBAC			
30				Sq			
				Ad			
32				Ad			
				BAC			
33				Ad			
				Ad			
34				Ad/BAC			
				Ad			
45				Ad			
				Ad			

【再発・転移肺がんにおけるEGFR, KRAS変異と頻度】

症例ID	サンプルID	手術日	判定	Histology	EGFR_L858R	EGFR_Exon19del	KRAS_G12V/C
12				Ad			
				Ad			
13				Ad			
				Ad			
19				Ad			
				Ad			
21				Ad			
				Ad			
23				Ad			
				Ad			
24				Ad			
				Ad			
31				Ad/ZBAC			
				Ad			
41				Ad			
				Ad			
42				Ad			
				Ad			
28				xSqAd			
				腺内リン(節)			
52				Ad			
				Ad			
58				Sq			
				Sq			