

REVIEW ARTICLE

ALK 肺癌診断と治療における実地臨床上の問題点

里内美弥子¹

Problems with the Diagnosis and Treatment of Patients with ALK-rearranged NSCLC in the Clinical Setting

Miyako Satouchi¹

¹Department of Thoracic Oncology, Hyogo Cancer Center, Japan.

ABSTRACT — Following reports of the ALK fusion gene in 2007, the development of ALK TKIs has ensued at a remarkable pace. For example, Crizotinib (Xalkori[®]) was approved in 2012 and Alectinib (Alecensa[®]) was approved in 2014. FISH, immunohistochemistry and RT-PCR are methods used to diagnose ALK fusion genes, each with their own advantages and disadvantages. Moreover, inconsistencies have been reported between these modalities. The proper method for achieving a reliable diagnosis in cases of lung cancer, a type of cancer that hinders tissue sample retrieval, is an issue that must be addressed. Furthermore, the proper treatment of resistant cases with ALK inhibitors, the differences in efficacy/toxicity between crizotinib and second-generation ALK inhibitors, such as alectinib, and the protocol for selectively using these drugs represent serious issues for clinicians. In this paper, we seek to provide insight into the current diagnosis of ALK-positive lung cancer and related issues, i.e., the processes involved/algorithms used in diagnosis, as well as the current status of and issues surrounding ALK-positive lung cancer treatment, including how to address acquired resistance to ALK inhibitors.

(JLCC. 2014;54:879-886)

KEY WORDS — Anaplastic lymphoma kinase (ALK) fusion gene, Crizotinib, Alectinib, Immunohistochemistry (IHC), Fluorescent *in situ* hybridization (FISH)

要旨 — 2007年にALK融合遺伝子が報告されてから、ALKチロシンキナーゼ阻害剤の開発がめざましいスピードで進み、2012年にはCrizotinib(ザークリ[®])が、2014年にはAlectinib(アレセンサ[®])が承認された。ALK融合遺伝子の診断法にはFISH、免疫染色、RT-PCRがあるが、それぞれに長所、短所があることが知られており、またその不一致についても報告され、組織検体採取が困難な肺癌において確実な診断を全ての症例に行うのにどうしたらよいのかは、今後解決すべき大きな問題となっている。また、ALK阻害剤での耐性症例をどのように治療していくのか、Crizotinibと今後使用可能になる

Alectinibなどの第2世代ALK阻害剤にどのような効果、毒性における違いがあって、どのように使い分けていくのかも今後臨床医が直面する大きな課題である。実臨床でどのように考え、どのようなアルゴリズムで診断していくのかという、診断における現状と課題、ALK阻害剤での耐性獲得時の対応など、ALK肺癌治療についての現状と課題について現時点での知見をもとに記載する。

索引用語 — Anaplastic lymphoma kinase (ALK) 融合遺伝子, Crizotinib, Alectinib, 免疫染色 (IHC), Fluorescent *in situ* hybridization (FISH)

¹兵庫県立がんセンター呼吸器内科。

※第54回日本肺癌学会総会シンポジウム1「非小細胞肺癌に対

する分子標的治療の役割」。

1. はじめに

2007年に anaplastic lymphoma kinase (ALK) 融合遺伝子が報告されてから、ALK チロシンキナーゼ阻害剤 (tyrosine kinase inhibitor ; TKI) の開発がめざましいスピードで進み、最初に Crizotinib (ザーコリ®) が承認されてから、2年が経過した。2014年には第2世代 ALK-TKI の Alectinib の臨床導入が見込まれ、ALK 融合遺伝子陽性症例での効果が期待される薬剤が多く開発中である。その高い臨床効果は数多く報告されており広く知られるところとなったが、希少肺癌でもあり、確実な診断や適切な投薬がどの医療機関でも行える状況になっているとは言いがたい。

ALK 融合遺伝子の診断法には fluorescent *in situ* hybridization (FISH), 高感度免疫染色 (ALK-IHC), reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) 法があるが、それぞれに長所、短所があることが知られており、またその不一致についても報告されていることから、可能な限り2種類の方法で確認して投与することが望ましいとされている。しかし、検体、特に組織検体採取が困難な肺癌で全例にそのような検査を行うことは困難である。確実な診断を全ての症例に行うにはどうしたらよいかは、今後解決すべき大きな問題とされている。

本稿では、ALK-TKIs を効果が期待できる症例に届けるための診断(対象症例の絞り込みや検体採取の問題点、ALK 融合遺伝子検査のアルゴリズム)を中心に、Alectinib の臨床導入後を見越した臨床での使用の時期、使い分け、副作用マネジメントについても述べる。

2. ALK 融合遺伝子と ALK-TKI

2007年に、微小管会合タンパク echinoderm microtubule associated protein-like 4 (EML4) 遺伝子と受容体チロシンキナーゼ ALK 遺伝子との新しい融合遺伝子 EML4-ALK が、非小細胞肺癌の約5%に発現していることが報告された。^{1,2} EML4-ALK は癌化能を有する活性型融合チロシンキナーゼであり、EML4内の塩基性領域を介して2量体化し恒常的に活性化されており、EML4-ALK を肺胞上皮に特異的に発現するトランスジェニックマウスで肺腺癌を発症することも示されている。Crizotinib (ザーコリ®) は ALK と c-MET, ROS-1 などのチロシンキナーゼを阻害するマルチキナーゼ阻害剤であり、FISH 法で EML4-ALK 陽性と確認された肺癌に対する第 I/II 相試験において 250 mg を 1 日 2 回の経口投与で奏効率 (response rate ; RR) 57%, 病勢制御率 (complete response (CR) + partial response (PR) + stable disease (SD)) 90%, 6 カ月無再発生存割合 72% と良好な成績が報告され、² 2012年4月に本邦での製造承認を得

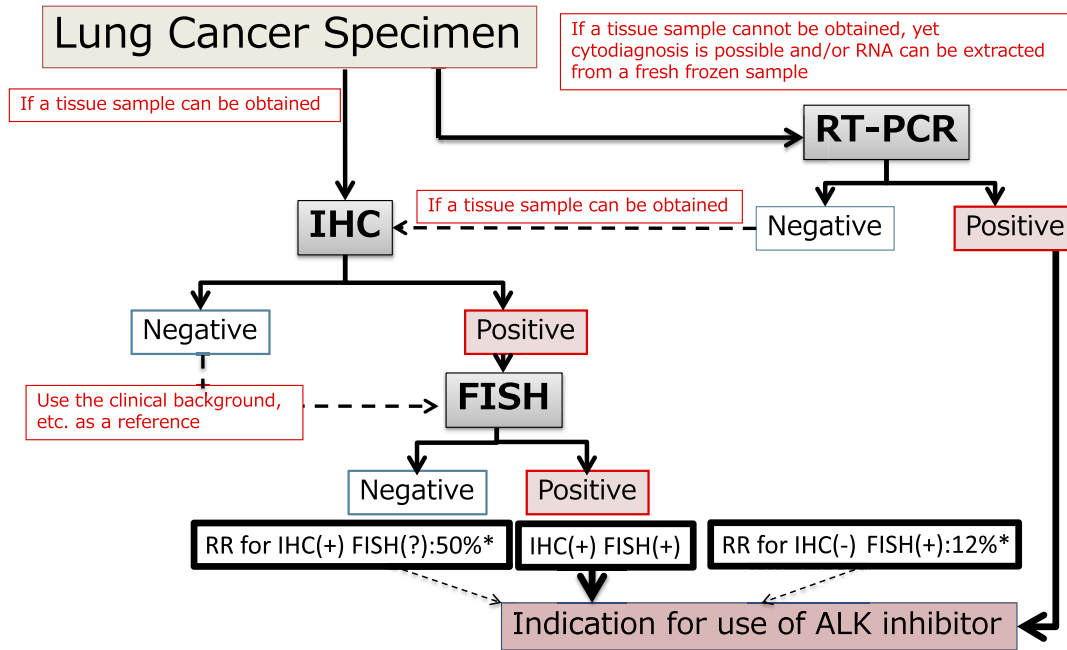
て、すでに臨床導入されている。セカンドラインでの標準治療 (ドセタキセルかペメトレキセド) と Crizotinib の比較第 III 相試験³において、標準治療に比べて有意に無増悪生存期間 (progression free survival ; PFS) と RR が優れることが、また、ファーストラインでのペメトレキセド+カルボプラチンもしくはシスプラチンとの比較第 III 相試験⁴においても同様に PFS と RR が優れることが報告されている。

Alectinib (アレセンサ®) は、ALK 選択性の高い ALK-TKI として本邦で開発された薬剤である。⁵ ALK 特異的に開発された ALK-TKIs は、マルチターゲット阻害剤の Crizotinib と区別し、これを第1世代 ALK 阻害剤とし、選択的 ALK 阻害剤は第2世代 ALK 阻害剤と総称されている。Alectinib は native ALK だけでなく、耐性変異とされる ALK C1156Y や ALK ゲートキーパー変異の ALK L1196M を nanomolar から sub-nanomolar の臨床的に使用可能な濃度で阻害することが示され、c-MET を含む他のキナーゼ阻害活性が極めて低いことが示されている。^{5,6} 臨床では日本で行われた第 I~II 相試験において、ALK 阻害剤の使用歴のない2次治療以降の ALK 融合遺伝子陽性の非小細胞肺癌症例で 93.5% の良好な RR を示し、⁷ 2013年6月には米国 Food and Drug Administration (FDA) から画期的新薬 (breakthrough therapy) の認定を得て、2014年7月に世界に先駆け、本邦厚生労働省の製造販売承認を得ている。ALK は ALK 融合遺伝子陽性肺癌の明確な治療ターゲットであり、すでに FDA が承認している Ceritinib (LDK378) などいくつかの第2世代 ALK 阻害剤が開発されており、耐性例に対する活性の違いや副作用の違いなどが注目され、検証が進められている。^{6,8}

3. ALK 陽性肺癌の診断

1) どのような症例に検査するのか

日本肺癌学会バイオマーカー委員会による「肺癌患者における ALK 遺伝子検査の手引き」(以下「ALK 遺伝子検査の手引き」)(<http://www.haigan.gr.jp/uploads/photos/366.pdf>) では「組織型では圧倒的に腺癌に多く他の組織型では例外的である」とされている。しかし、ALK 遺伝子転座の報告において扁平上皮癌で陽性例が含まれるものは散見され、^{9,10} 腺癌よりも扁平上皮癌に多かったとする報告さえもある。¹⁰ ALK 融合遺伝子陽性肺癌では、① Cribriform acinar pattern, ② Solid pattern, ③ Intracellular mucin (Signet ring cell), ④ Extracellular mucin が特徴的とされており、Solid pattern とされる比較的低下分化なものに多いことに注意が必要である。また、多くの内科での肺癌診断時の検体は気管支鏡などを用いた組織検体や細胞診検体であり、全体を評価できないこ



Modified from the Guidelines for ALK Gene Testing in Lung Cancer Patients of the Biomarker Committee, Japan Lung Cancer Society

Figure 1. Algorithm of ALK-translocated lung cancer diagnosis. IHC: immunohistochemistry, FISH: fluorescent *in situ* hybridization, RT-PCR: reverse transcriptase-PCR, RR: response rate. *: Excerpted from 'Addressing inconsistencies between FISH and ultra-IHC (Report #2) (<http://www.haigan.gr.jp/uploads/photos/589.pdf>).

とから一部に腺癌の成分を含む混合型腺癌での ALK 陽性症例を見落とす可能性がある。2013 年に the College of American Pathologist (USCAP), International Association for Study of Lung Cancer (IASLC), Association for Molecular Pathology (AMP) 合同で肺癌の「molecular testing guideline」が作成され、Journal of Thoracic Oncology に発表されているが、¹¹ molecular testing は一部にでも腺癌成分を含むものには行うべきで、完全切除例での「pure squamous cell carcinoma」「pure small cell carcinoma」を除く全例が対象になること、生検材料などでは腺癌の成分がなくとも epidermal growth factor receptor (EGFR) 遺伝子変異や ALK 遺伝子転座を完全に否定できない、とされた。これに基づくと内科症例ではほとんどの非小細胞肺癌で ALK 検査を行うことを検討すべきということになる。また、免疫染色では ALK 肺癌において扁平上皮癌のマーカーとされる p63 の陽性例が多いことが報告されており、^{12,13} 比較的低下分化な非小細胞肺癌の組織診断に免疫染色を根拠に扁平上皮癌か非扁平上皮癌かを分類しようとし、その際に p63 を用いると多くの ALK 肺癌を見逃すきっかけになりかねないことに注意が必要である。ALK 遺伝子検査を念頭に免疫染色を行う際には、扁平上皮癌のマーカーとして、ALK 肺癌で陽性率の高い p63 を根拠とせず、扁平上皮

癌により特異性が高いとされる p40 を用いるなどの注意も必要である。

臨床的に ALK 融合遺伝子陽性肺癌の特徴として若年者、非～軽喫煙者ということも知られているが、重喫煙者や高齢者でも少なからず ALK 転座は検出されることが経験され、「ALK 遺伝子検査の手引き」や前述の「molecular testing guideline」でも、臨床背景で ALK 転座を否定できないことが示されている。EGFR, KRAS などと排他的であることが繰り返し報告されており、「ALK 遺伝子検査の手引き」では EGFR 遺伝子変異をみて陰性であれば ALK 融合遺伝子が陽性である可能性は極めて低いと考えられ、EGFR 遺伝子変異陰性例で ALK 検査を行うという考え方もある。しかし、EGFR 遺伝子変異と ALK 融合遺伝子の両者が陽性であった症例の報告も散見されており、検査判明までの時間も考慮し、EGFR 遺伝子変異陰性例のみに検査するのか、両者並行して検査を行うのか、背景因子も考慮の上各症例で検討していく必要がある。ただし、ALK-IHC や RT-PCR は保険償還されおらず、施設で IHC を行う場合には、病理診断での免疫染色の点数 (400 点) のなかで、組織型診断の TTF-1 や p40 とともに行うことで、コストがオーバーになることが問題である。検査会社での検査についても施設ごとに対応が異なっていると思われるが、400 点の保険償還

October, 2013 n=1562 Drs.	
EGFR test & ALK-IHC & ALK-FISH (simultaneously)	145 Drs. 9.3%
EGFR test & ALK-IHC (simultaneously) If ALK-IHC + → ALK-FISH	294 Drs. 18.8%
EGFR wild type → ALK-FISH	538 Drs. 34.4%
EGFR wild type → ALK-IHC & ALK-FISH (simultaneously)	329 Drs. 21.1%
EGFR wild type → ALK-IHC + → ALK-FISH	256 Drs. 16.4%

: If a tissue sample is available

Figure 2. ALK fusion gene test configurations for advanced/relapsed cases.

を用いた場合の差額や保険償還しない場合の検査料金は、混合診療にしない限りは病院もしくは医局(研究者)負担などになっていると想像され、「ALK 遺伝子検査の手引き」に準じて ALK-IHC をまず行うことにはコストに関して大きな問題がある(RT-PCR も、院内で行っても検査会社で行っても、研究者や病院負担で行うことになるが、こちらに関してはファイザー社提供の PRP プログラム(保険償還前の ALK 遺伝子検査提供プログラム)での検査が現在利用可能になっている)。

2) ALK 融合遺伝子の検査法とアルゴリズム

ALK 融合遺伝子の診断には FISH, ALK-IHC, RT-PCR 法が用いられるが、一長一短があることが知られている。FISH 法による ALK 融合遺伝子の検出は ALK 遺伝子の 3' 側のプローブ DNA を赤の蛍光色素で、5' 側のプローブ DNA を緑の蛍光色素でそれぞれ標識した ALK Dual Color Break-apart Probe による Break-Apart 法が用いられ、転座のない正常細胞は赤と緑が重なって(近接して)いるが、転座が起こると赤と緑の蛍光が離れることで判定される。Crizotinib の治験では FISH での判定を用いて対象症例を組み入れていたため、Crizotinib 承認の際には FISH が FDA 承認を受けた世界標準とされていた。しかし、この判定には熟練が必要で組織切片の厚みなどの問題もあり、偽陰性・偽陽性いずれも起こりうる。DNA の質が悪いと検出不能に終わることも指摘され、組織検体採取後のホルマリン固定時間を適正にするなど、検体採取後の処理にも注意が必要である。また、Crizotinib の第 I 相試験での報告では、FISH 法のみで ALK 融合遺伝子陽性と診断された症例での RR は 57% で、RT-PCR や IHC でも確認されていた症例での RR (81%) に比べ有意に不良であることが示されており、² FISH だけでは診断として不確実である可能性が示唆される。一方 Alectinib の開発においては FISH と IHC 両者での陽性(もしくは RT-PCR 陽性)例に限って投与

しており、RR は 93.5% と非常に優れていた。⁷ 両剤の効果の差の可能性もあるが、その患者選択の違いが影響した可能性は否定できない。抗 ALK 抗体を用いた IHC は、適切な抗体を選び適切な増感法を用いる必要があり、やはり慣れた読み手でないと偽陰性の可能性がある。数年前までは IHC 法での判定は施設差や読み手の差が大きかったが、現時点では、抗体として 5A4, D5F3 を用い、増感法として EnVision Flex+, i-AEP, Bond Polymer Refine Detection などを用いると、安定した結果が得られることが示されてきている。¹⁴⁻¹⁶ RT-PCR 法は EML4-ALK 融合点を挟むようにプライマーを設定して行われる。EML4-ALK 融合遺伝子が存在しない限り PCR 産物が生じないため、非常に感度が高いことが利点であるが、新鮮標本が必要であることと、転座のパートナーによっては検出できないことが知られており、無視できない比率の偽陰性が生じる問題がある。RT-PCR は細胞診でも検査可能であることが大きな利点であり、全例で組織診断を行うことが困難な肺癌においては有用な検査法である。しかし、偽陰性率が高いことから前述の「molecular testing guideline」では、「first choice の検査法としては推奨されない」とされている。

日本肺癌学会の ALK 検査のアルゴリズムでは「まず、ALK-IHC を行い、陽性例では FISH での確認を行い、陽性症例で ALK-TKI の投与を行うとしている。細胞診しか用いられない場合は RT-PCR を行う、この場合は陽性であれば、確実性が高く ALK-TKI の投与対象となる。しかし、陰性の場合には偽陰性の可能性が比較的高いため、可能であれば、FISH や IHC を考慮する。IHC 陰性例についても臨床背景などを参考に FISH も検討してもよい」とされている (Figure 1)。

この ALK 検査法については、2012 年 10 月に Crizotinib の製造販売承認から薬価収載までの期間にファイザー社から ALK 融合遺伝子検査の提供 (PRP プログラ

ム)が行われた際に、ALK-IHCとFISHの両者が行われた2337例中不一致が48例に認められたことが日本肺癌学会HPに掲載された。2013年5月にはそれらの症例で、再検査可能であったものの結果と、Crizotinibが投与された症例でのRRも含めた第2報も掲載されている。ALK-IHC陰性、FISH陽性とされたものは、FISH陽性例の14%を占めていたが、それらの多く(72%)は再検査にても同様の結果であった。また、再検査でALK-IHC陰性、FISH陽性であったもののCrizotinibのRRは12.5%で半数以上がPDの結果であり、明らかにRRが劣っていることが示された。再検査で同様の結果であった症例を除くとその多くはFISHが解析不能な結果であり、検体不良である可能性も示唆される結果であったが、どのような症例で不一致になりやすいかはこの検討では不明である。IHCが陽性であったもののうちFISH陰性であった症例は5%であり、その多くはFISH解析不能例であった。再検査でもALK-IHC陽性、FISH陰性となる例は存在せず、当初の結果でALK-IHC陽性、FISH陰性症例のRRは50%であった。

この結果から、ALK-IHCスクリーニングでは約2%に存在するALK-IHC陰性、FISH陽性症例を高感度IHCスクリーニングでは見逃すことになる。しかし、このパターンを示す症例でのRRは低いことが想定される。できるだけALK陽性症例を見落とさないように、両者を検査することが推奨されている。

FISHの解析不能が無視できない割合で存在することも示されており、今後も実地臨床で両者での不一致の問題には直面することは少なくないと考えられる。RT-PCRが可能な症例には検討することになるが、こちらも偽陰性の割合は少ないので、臨床医が功罪を十分に検討の上使用していく必要がある。

また、ALK融合遺伝子陽性肺癌では進行スピードが速いことも経験され、早急に診断する必要性もあり、また今後初回治療での投与を考慮する場合には、やはりできるだけ早期に診断できるようにturn around time (TAT)を短くするよう努力する必要がある。

ALK-IHC陽性例ではFISH陽性である可能性が高く、FISHが陰性もしくは検出不能であってもRRが50%とされていることから、私見であるが、病勢進行により早急なALK-TKIの投与が望まれる場合には、IHCスクリーニングでの陽性のみで投与を検討することも可能ではないかと考えている。

2013年10月に全国の肺癌診療を行っている1562人の医師を対象にアンケートを行っているが、その結果ではALK検査のアルゴリズムでは「EGFR遺伝子変異検索を行ってwild typeであればFISHのみを行う」が最も多く、次が「EGFR遺伝子変異検索を行ってwild type

であればFISHとIHCを同時に行う」であった(Figure 2)。

いずれにしても、ALK-IHC、FISH、RT-PCRのいずれもALK融合遺伝子の存在やALK-TKIの奏効を完全に予測できるものではなく、各臨床医がこれらの現状を踏まえて、それぞれの施設ごとにアルゴリズムを考慮していく必要がある。

3) ALK検査を見据えた検体処理

まずは腫瘍細胞が含まれたできるだけ大きな組織採取を心がける。特に気管支鏡検体は微小なことも少なくないため、①適切な関与気管支同定、②確実な生検手技を習得し、できるだけ大きな組織検体が得られるように努力することが重要になる。

また、組織検体が得られない場合には、セルブロックの作製を心がける。腫瘍の含まれるセルブロックでFISHやALK-IHCは可能となる。

前述の通り、FISHは検出不能に陥ることがALK-IHCとは異なりしばしば経験されるが、これはDNAをみているからであり、DNAの質に検査結果が左右される。採取後速やかに固定すること、固定時間を長くしないこと(12~48時間)、未染スライドを使う場合には作製後6週間以内にするなど留意する必要がある。病理医との連携も必要になる。肺癌では組織採取が困難なことも多いが、その際には前述のセルブロック作製が有用である。たとえば、末梢病変での鉗子を用いた組織採取が困難な場合などにはリンパ節や末梢病変に対して経気管支吸引針生検(TBNA)を行い組織採取につとめるが、それも難しければ経気管支吸引針細胞診(TBAC)の細胞診検体でセルブロック作製を行い、そちらでALK-IHCを含めた免疫染色やFISHが可能になることもあり、ALK融合遺伝子検索で有用性が高い(検査センターではFISHでのセルブロックは推奨検体ではないとされており、取り扱いに際しては提出する検査会社に確認を要する)。細胞診検体に関してはRT-PCRも可能であるが、こちらはRNAの検出であり、RNAは血液混入のある気管支鏡検体では速やかに分解されるため、素早い処理が必要である。一般的に推奨されている方法としては「検体を生理食塩水に懸濁し、細胞浮遊液を作り、半量は病理細胞診にまわす。半量を3000回転、5分で遠心分離を行い、その沈渣にRNA保存液を加えた上で冷蔵保存して検査会社に提出」とされている。RNAが不安定であるため、遠心分離までが検体採取後20分、全工程終了までが30分以内とされ、この条件で採取すると検体のRNAは4週間程度安定とされている。しかし、多くの症例の検査を連続で行っている場合に1検体ずつ遠心分離することは困難であり、当院ではそのために、生理食塩水でなく培養液に検体を懸濁し、冷蔵保存しておき、全例の検査

終了後に1日の検査分の遠心分離を行い、RNA保存液を添加してマイクロスピットで -80° のディープフリーザーに保存している。この方法でもRT-PCRが行える良質なRNA保存はできている。

4. ALK-TKI 治療における日常診療上の問題点

Crizotinibが臨床導入され、その高い臨床的効果が示されているが、PFS中央値は8~10カ月程度であり、²⁴その耐性化が大きな問題である。再発部位で最も多いのは中枢神経系（central nervous system；CNS）であり、初再発部位の46%を占めるとの報告もある。¹⁷⁻¹⁹ CNS再発は薬剤耐性というより移行性の問題と考えられている。^{18,19} TKI治療中の髄膜炎を伴わないCNS再発や、CNS以外での4カ所以下の再発の場合で放射線治療などの局所治療可能病変のみであれば「Oligometastasis」と呼ばれ、局所治療を行った上でTKIを継続することが治療選択肢とされる。¹⁹ 局所治療を行っても制御不能になってくることは多く、今後開発されてくるALK-TKIに関してはその髄液への移行性も注目されるであろう。薬剤耐性機序としてはEGFRやKRASというバイパス経路の活性化とALKの2次変異による耐性化が報告されている。^{20,21} 前述のごとくAlectinibは複数のALK耐性変異に活性があることが示されている。⁶ FDAがCrizotinib耐性ALK融合遺伝子陽性肺癌で承認したCeritinib（LDK378）も、ALK耐性変異に効果があることが示されている。⁸ Alectinibはその20mg/40mgカプセルと150mgカプセルでの同等性試験（bioequivalence study：JP28927）において、Crizotinib前治療のある症例で63.2%（Crizotinib耐性例で58.8%）と、Crizotinib投与歴のある症例での良好な効果が報告されている。²² また、毒性に関する直接比較はないものの、Alectinibの方が軽度である可能性が示唆されている。⁷

Alectinibの承認に伴い、今後この2つのALK-TKIsの投与順序をどうするかも含めた使い分けが議論されることになる。両者の1次治療もしくは2次治療のセッティングでの第III相試験が行われているが、希少病でもあり、その完遂は容易ではないことが想像され、またその結果が得られるまでには数年は要することが想像される。直接比較がないままにこれら2つの薬剤、もしくは今後の動向によってはさらに多くのALK阻害剤を使っていくことになる。今後希少フラクションの肺癌での薬剤開発ではこのような問題に直面していくことになることが予想され、どのようなエビデンスの蓄積が必要なのか、日常臨床での経験と並行して検討していく必要がある。

あとがき

第54回日本肺癌学会総会のシンポジウムで講演させていただいた内容をまとめさせていただいた。しかし、この分野の進展は極めて速く、いくつかの変化があったので、以下にそのポイントを追記して本稿を終えたい（アレセンサ[®]の製造販売承認については文中に記載）。肺癌の分子標的治療の分野は、薬剤開発もその耐性研究などの基礎研究もめざましいスピードで進んでおり、肺癌に携わる医師はその動きをしっかりと把握した上で診療にのぞむ必要がある。

*1；3-1) 自施設でのALK-IHCについて

2014年4月の診療報酬改定において、400点（N002免疫染色6、その他）に対する1600点の加算条件である「確定診断のために4種類以上の抗体を用いた免疫染色が必要な患者」の対象疾患に肺悪性腫瘍（腺癌・扁平上皮癌）が追加された。非小細胞肺癌の治療方針決定のために扁平上皮癌か非扁平上皮癌かを見分けることが必要となってきてから診断時に複数の免疫染色を行うことが多くなり、免疫染色の保険償還が1臓器につき400点のみであることから複数の免疫染色のコストが全て病院負担になっていることが問題となっていた。この加算はここ数年問題視されていた免疫染色での費用負担を解決するものとして期待されている。この加算を利用して、経験のある病理医が常勤している施設では、扁平上皮癌、非扁平上皮癌の鑑別診断の免疫染色にALK-IHCを追加して、扁平上皮癌か否かを診断すると同時にALKスクリーニングをかけることでALK肺癌診断の取りこぼしを防ぐことが、保険償還上行きやすくなることも期待される。

しかし、本算定には「既にEGFR遺伝子検査、ALK融合遺伝子標本作製を算定している場合は当該加算はできない」との但し書きがあり、ALKの問題のみならず、組織型診断に関して日常臨床で意味のある加算になっているのかどうか今後の見極めが必要である。

ALK-IHCの費用負担に関してはAlectinibのコンパニオン診断としてヒストファイブ ALK iAEP[®]キット（ニチレイ）を用いたALK-IHCが承認されており（*2参照）、保険償還されるようになる。しかし、この検査がCrizotinibを使用する際にも保険償還されるのかどうかについては現時点（2014年7月）ではまだ確認できていない。

*2；3-2) ALK融合遺伝子の検査法とアルゴリズムについて

上述の通りの診療報酬改定により、保険点数的な問題が少なくなり、経験のある病理医が常駐している施設では自施設でのALK-IHCが行えるようになれば、Crizo-

tinib 使用に関する TAT が短縮することが予想される。しかし、2014 年 7 月に承認された Alectinib は、添付文書でヒストファイン ALK iAEP®キットを用いた ALK-IHC および Vysis® ALK Break Apart FISH プローブキットを用いた FISH の両者での ALK 検査が投与要件として定められており、ニチレイのヒストステイナー (Nichirei Histostainer) を採用している施設 (国内シェアは約 8%) か的手法での検査を行わない限り、外注での ALK-IHC での確認が必須となる。ALK-TKI の 2 剤で院内での ALK-IHC スクリーニングを行う施設では、TAT が異なることになる可能性もあり、ALK-TKI の 2 剤でその投与を決める際の ALK 融合遺伝子検索のアルゴリズムや TAT が異なってくる可能性がある。ALK-IHC と FISH の不一致はある程度の頻度であると思われるが、Alectinib の添付文書上は「検査にあたっては両者を測定すること」と書かれている。不一致になった際にも「ALK 遺伝子診断の手引き」などを参考に医師裁量で処方可能かと考えているが、保険償還で問題がないかどうかは現時点で確認できていない (2014 年 7 月現在の情報による記載)。

本論文内容に関連する著者の利益相反：里内美弥子 [講演料など] 中外製薬株式会社、大鵬薬品工業株式会社、ファイザー株式会社、日本イーライリリー株式会社 [委受託研究 (治験等)] 大鵬薬品工業株式会社、中外製薬株式会社、ファイザー株式会社、日本イーライリリー株式会社、ノバルティスファーマ株式会社、小野薬品工業株式会社、ブリストル製薬株式会社、第一三共株式会社

REFERENCES

- Soda M, Choi YL, Enomoto M, Takada S, Yamashita Y, Ishikawa S, et al. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature*. 2007;448:561-566.
- Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR, Shaw AT, Solomon B, Maki RG, et al. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2010;363:1693-1703.
- Shaw AT, Kim DW, Nakagawa K, Seto T, Crinó L, Ahn MJ, et al. Crizotinib versus chemotherapy in advanced ALK-positive lung cancer. *N Engl J Med*. 2013;368:2385-2394.
- Mok T, Kim DW, Wu YL, Solomon BJ, Nakagawa K, Mekhal T, et al. First-line crizotinib versus pemetrexed-cisplatin or pemetrexed-carboplatin in patients (pts) with advanced ALK-positive non-squamous non-small cell lung cancer (NSCLC): results of a phase III study (PROFILE 1014). *J Clin Oncol*. 2014;32(Suppl):abstr 8002.
- Sakamoto H, Tsukaguchi T, Hiroshima S, Kodama T, Kobayashi T, Fukami TA, et al. CH5424802, a selective ALK inhibitor capable of blocking the resistant gatekeeper mutant. *Cancer Cell*. 2011;19:679-690.
- Kodama T, Tsukaguchi T, Yoshida M, Kondoh O, Sakamoto H. Selective ALK inhibitor alectinib with potent antitumor activity in models of crizotinib resistance. *Cancer Lett*. 2014;351:215-221.
- Seto T, Kiura K, Nishio M, Nakagawa K, Maemondo M, Inoue A, et al. CH5424802 (RO5424802) for patients with ALK-rearranged advanced non-small-cell lung cancer (AF-001JP study): a single-arm, open-label, phase 1-2 study. *Lancet Oncol*. 2013;14:590-598.
- Friboulet L, Li N, Katayama R, Lee CC, Gainor JF, Crystal AS, et al. The ALK inhibitor ceritinib overcomes crizotinib resistance in non-small cell lung cancer. *Cancer Discov*. 2014;4:662-673.
- Murakami Y, Mitsudomi T, Yatabe Y. A screening Method for the ALK Fusion Gene in NSCLC. *Front Oncol*. 2012;2:24.
- Martelli MP, Sozzi G, Hernandez L, Pettirossi V, Navarro A, Conte D, et al. EML4-ALK rearrangement in non-small cell lung cancer and non-tumor lung tissues. *Am J Pathol*. 2009;174:661-670.
- Lindeman NI, Cagle PT, Beasley MB, Chitale DA, Dacic S, Giaccone G, et al. Molecular testing guideline for selection of lung cancer patients for EGFR and ALK tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, International Association for the Study of Lung Cancer, and Association for Molecular Pathology. *J Thorac Oncol*. 2013;8:823-859.
- Yoshida A, Tsuta K, Nakamura H, Kohno T, Takahashi F, Asamura H, et al. Comprehensive histologic analysis of ALK-rearranged lung carcinomas. *Am J Surg Pathol*. 2011;35:1226-1234.
- Sakai Y, Nakai T, Ohbayashi C, Imagawa N, Yanagita E, Satake R, et al. Immunohistochemical profiling of ALK fusion gene-positive adenocarcinomas of the lung. *Int J Surg Pathol*. 2013;21:476-482.
- Takamochi K, Takeuchi K, Hayashi T, Oh S, Suzuki K. A rational diagnostic algorithm for the identification of ALK rearrangement in lung cancer: a comprehensive study of surgically treated Japanese patients. *PLoS One*. 2013;8:e69794.
- Hutarew G, Hauser-Kronberger C, Strasser F, Llenos IC, Dietze O. Immunohistochemistry as a screening tool for ALK rearrangement in NSCLC: evaluation of five different ALK antibody clones and ALK FISH. *Histopathology*. 2014;65:398-407.
- Nitta H, Tsuta K, Yoshida A, Ho SN, Kelly BD, Murata LB, et al. New methods for ALK status diagnosis in non-small-cell lung cancer: an improved ALK immunohistochemical assay and a new, Brightfield, dual ALK IHC-in situ hybridization assay. *J Thorac Oncol*. 2013;8:1019-1031.
- Gainor JF, Ou SH, Logan J, Borges LF, Shaw AT. The central nervous system as a sanctuary site in ALK-positive non-small-cell lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2013;8:1570-1573.
- Camidge DR. Taking aim at ALK across the blood-brain barrier. *J Thorac Oncol*. 2013;8:389-390.
- Weickhardt AJ, Scheier B, Burke JM, Gan G, Lu X, Bunn PA Jr, et al. Local ablative therapy of oligoprogressive

- disease prolongs disease control by tyrosine kinase inhibitors in oncogene-addicted non-small-cell lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2012;7:1807-1814.
20. Katayama R, Shaw AT, Khan TM, Mino-Kenudson M, Solomon BJ, Halmos B, et al. Mechanisms of acquired crizotinib resistance in ALK-rearranged lung Cancers. *Sci Transl Med.* 2012;4:120ra17.
21. Doebele RC, Pilling AB, Aisner DL, Kutateladze TG, Le AT, Weickhardt AJ, et al. Mechanisms of resistance to crizotinib in patients with ALK gene rearranged non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2012;18:1472-1482.
22. Nakagawa K, Hida T, Seto T, Satouchi M, Nishio M, Hotta K, et al. Antitumor activity of alectinib (CH5424802/RO5424802) for ALK-rearranged NSCLC with or without prior crizotinib treatment in bioequivalence study. *J Clin Oncol.* 2014;32(Suppl):abstr 8103.