

CASE REPORT

## EGFR 遺伝子変異陽性肺腺癌に対し EGFR-TKI 治療後、 気管支鏡下再生検を施行し組織診陰性であった 3 症例

森川 慶<sup>1,3</sup>・栗本典昭<sup>2</sup>・柿沼一隆<sup>1</sup>・  
古屋直樹<sup>1</sup>・宮澤輝臣<sup>1</sup>・峯下昌道<sup>1</sup>

### Three Cases of an Unsuccessful Histopathological Diagnosis of Bronchoscopic Re-biopsy Specimens from EGFR-mutant Adenocarcinoma Patients After EGFR-TKI Therapy

Kei Morikawa<sup>1,3</sup>; Noriaki Kurimoto<sup>2</sup>; Kazutaka Kakinuma<sup>1</sup>;  
Naoki Furuya<sup>1</sup>; Teruomi Miyazawa<sup>1</sup>; Masamichi Mineshita<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Division of Respiratory Medicine, Department of Internal Medicine, <sup>2</sup>Division of Chest Surgery, Department of Surgery, St. Marianna University School of Medicine, Japan; <sup>3</sup>NBC Counter Medical Unit, Japan Ground Self-Defense Force, Japan.

**ABSTRACT** — **Background.** The clinical use of 3rd generation epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor (EGFR-TKI) has become more important in the treatment of patients in whom T790M mutations are detected. At present, however, bronchoscopic re-biopsy is not widely conducted. We report three cases of bronchoscopic re-biopsy in patients with EGFR-mutant adenocarcinoma. **Case Reports.** Cases 1 and 2 were classified as stage IV (EGFR mutation: exon19 deletion), while case 3 was classified as stage I (EGFR mutation: exon21 L858R point mutation) with poor lung function and multiple ground-glass nodules (GGNs) at other lobes. All patients received EGFR-TKI as a 1st line therapy. The treatments were discontinued due to disease progression, and subsequent bronchoscopic re-biopsies of the primary lesions were performed. Case 1: EBUS showed curved echoes around the access bronchus, making it difficult to collect a tissue sample with a forceps. The cytological diagnosis confirmed class V with an exon19 deletion, without a T790M mutation; the histopathological diagnosis was negative. Case 2: EBUS revealed the guide-sheath adjacent to the target lesion. However, both the cytological and histopathological results were negative. Case 3: EBUS showed the target lesion, but the number of procedures was reduced due to bleeding. Although exon21 L858R and T790M mutations were detected from the cytological sample, the histopathological results were negative. **Conclusion.** Bronchoscopic re-biopsy appears to be difficult due to pathological tissue changes and tumor shrinkage after treatment. The targeted lesion and diagnostic procedures should be carefully selected in response to each case.

(JLJC. 2016;56:219-226)

**KEY WORDS** — EGFR-mutant NSCLC, Re-biopsy, Bronchoscopy

Corresponding author: Noriaki Kurimoto.

Received January 25, 2016; accepted March 24, 2016.

**要旨** — **背景.** 第 3 世代 EGFR-TKI の臨床導入にあたり T790M 変異の確認が重要であるが、気管支鏡下再生検の症例蓄積は少ない。今回、気管支鏡下再生検を行った EGFR 遺伝子変異陽性肺腺癌 3 例を経験したので報告する。**症例.** 症例 1, 2 は IV 期 (EGFR 変異; いずれも exon19 欠失), 症例 3 は I 期 (exon21 L858R 点突然変異) であったが、低肺機能および複数病変のため EGFR-

TKI を投与した。いずれも経過中増悪し、初回生検と同部位から再生検を行った。症例 1 は EBUS で within を得たが気管支周囲に高輝度線状影を認め、鉗子生検に難渋した。組織診陰性であったが細胞診陽性、T790M 変異陰性であった。症例 2 は EBUS で adjacent に留まり、組織診・細胞診ともに陰性であった。症例 3 は EBUS で within だったが、出血のため処置回数を減らした。細

聖マリアンナ医科大学<sup>1</sup>呼吸器内科, <sup>2</sup>呼吸器外科; <sup>3</sup>陸上自衛隊対特殊武器衛生隊。

論文責任者: 栗本典昭。

受付日: 2016 年 1 月 25 日, 採択日: 2016 年 3 月 24 日。

胞診陽性, T790M 変異を認めたが, 組織診陰性であった。  
**結語.** 気管支鏡下再生検は, 治療による組織性状変化や腫瘍径縮小などで困難な症例が存在し, 対象病変の選定

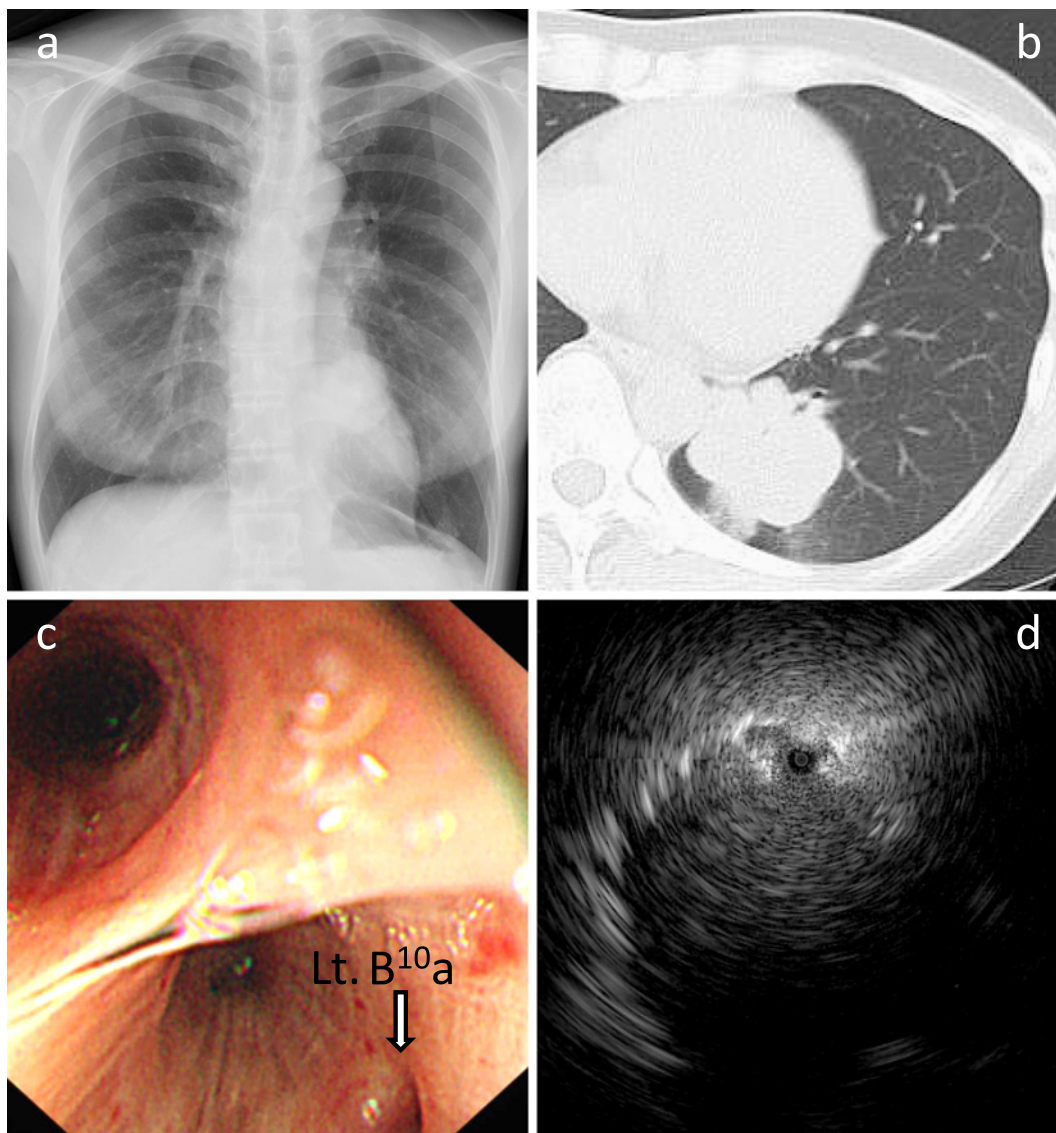
や組織採取法のさらなる工夫が必要と考えられた。

**索引用語** — EGFR 遺伝子変異陽性非小細胞肺癌, 再生検, 気管支鏡

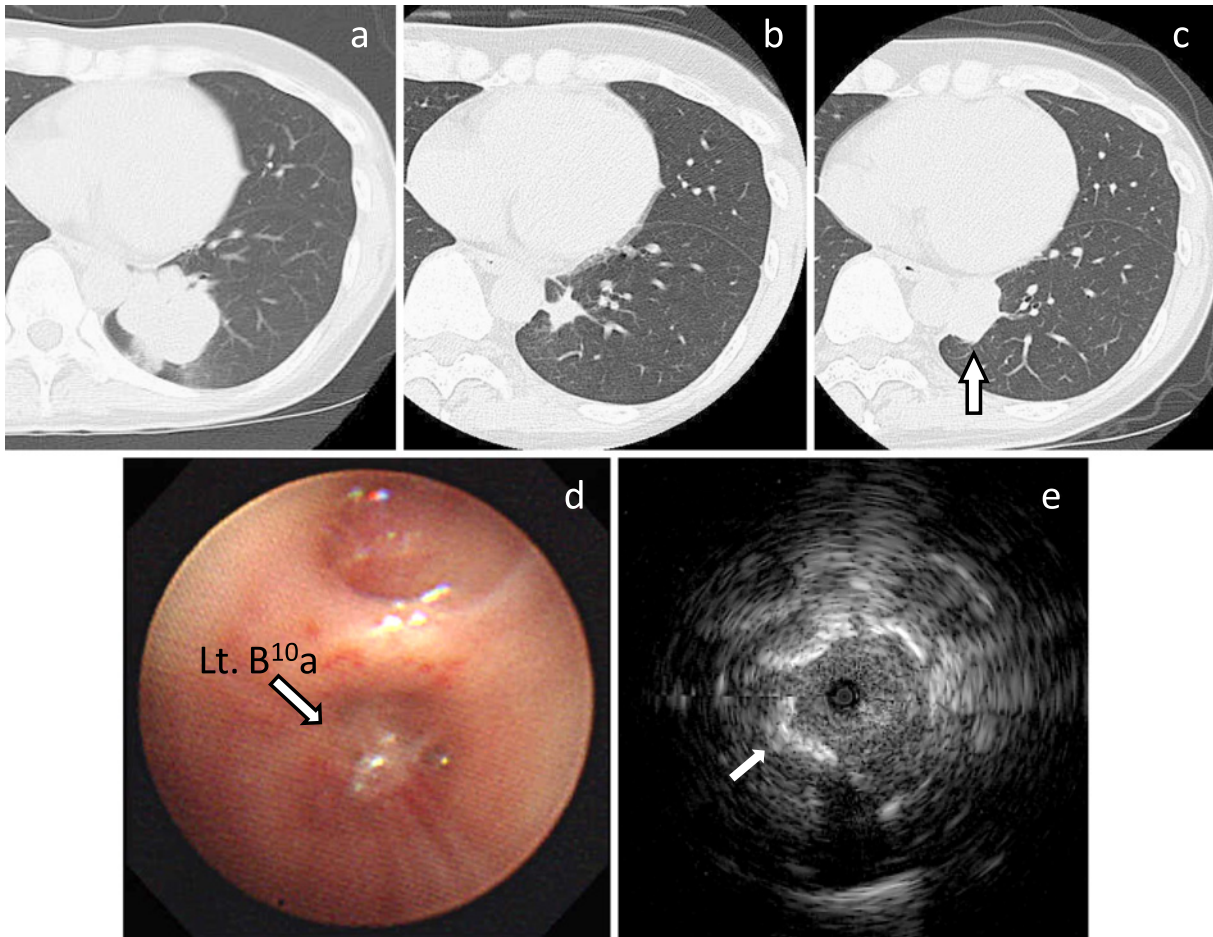
## はじめに

Epidermal growth factor receptor (EGFR) 遺伝子変異を有する IV 期非小細胞肺癌に対する一次治療として, EGFR-tyrosine kinase inhibitor (TKI) の単剤治療は日本肺癌学会肺癌診療ガイドラインにおいて grade A とし

て推奨され, 現在 3 種類の EGFR-TKI が使用可能である。しかしながらいずれの薬剤も治療耐性を生じ, 約半数は exon20 T790M 変異が原因とされている。<sup>1</sup> 第 3 世代 EGFR-TKI は, EGFR-TKI 活性化変異および T790M 耐性変異を選択的かつ不可逆的に阻害し, T790M 変異例で奏効率 61%, progression free survival (PFS) 9.6 ヶ月と



**Figure 1.** a) A chest radiograph showing a mass in the left lower lung field. b) A chest CT image showing a lung tumor in the left lower lobe. c) The initial bronchoscopic view of the access bronchus (left B<sup>10</sup>a). d) An EBUS image shows heterogeneous internal echo within the lesion.



**Figure 2.** A chest CT image showing a lung tumor in the left lower lobe before treatment (a), after the administration of EGFR-TKI (b), after the acquisition of drug resistance (c). (d) The second bronchoscopic view of the access bronchus (left B<sup>10a</sup>). (e) An EBUS image showing hyperechoic curved echoes (arrow) around the access bronchus within the lesion.

高い効果が報告されている。<sup>2</sup> 第3世代EGFR-TKIの臨床導入後にはT790M変異検出のための再生検(re-biopsy)が必要となるが、治療後の組織性状の変化や病変径の縮小などにより、初回診断時の気管支鏡検査と比較し難易度が上昇することが予想される。当科でも第3世代EGFR-TKIの使用を見込める患者に対する再生検を施行しており、そのうち気管支鏡下再生検の際に組織検体採取に難渋した症例を経験したため、その詳細を報告する。

## 症例

症例1：40歳代、女性。

主訴：咳嗽、胸部異常陰影。

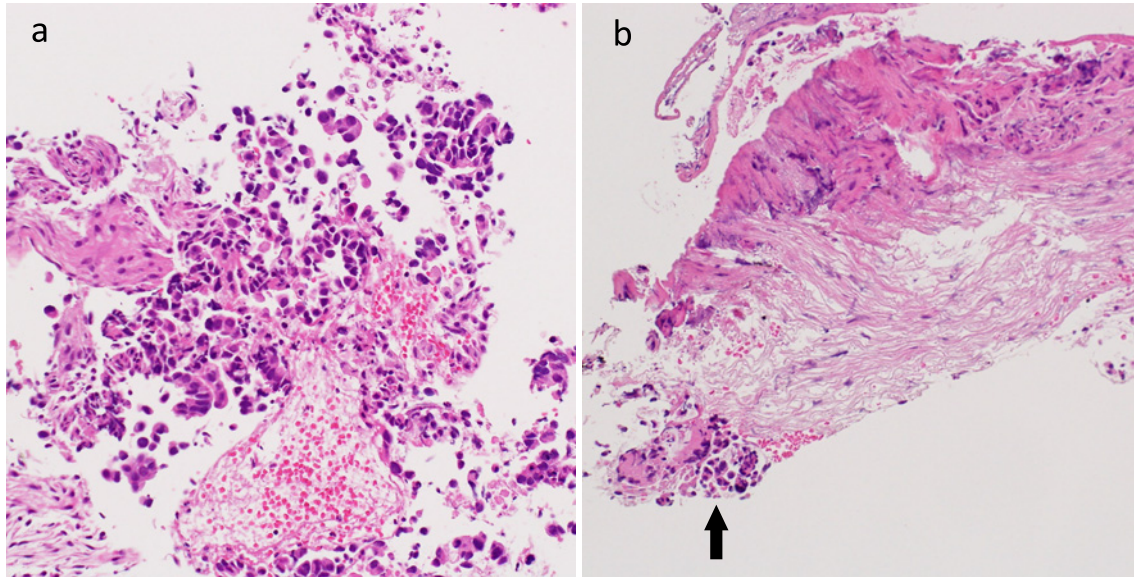
既往歴：特記事項なし。

生活歴：喫煙20本/日×15年。

家族歴：父 小細胞肺癌。

現病歴：1ヶ月以上咳嗽が持続したため前医を受診し、胸部X線単純写真で異常陰影(Figure 1a)を認めて当科へ紹介受診となった。胸部computed tomography(CT)では左S<sup>10</sup>に54mm大の腫瘤(Figure 1b, 2a)と葉間に沿った多数の結節があり、胸膜播種が疑われた。Fluorodeoxyglucose-positron emission tomography(FDG-PET)では左S<sup>10</sup>にFDG異常集積(standardized uptake value(SUV)max:8.9)を認め、左肺門および縦隔リンパ節にも集積を認めた。

臨床経過：初回の気管支鏡では、左底幹の気管支粘膜が全周性に発赤・腫脹しており、左B<sup>10a</sup>からendobronchial ultrasonography(EBUS)プローブ(UM-S20-17S, 20MHz, radial type, OLYMPUS)を挿入し、画像上withinかつheterogeneousな内部エコーを得た(Figure 1c, 1d)。細胞診・組織診(Figure 3a)ともに腺癌の所見を得、左S<sup>10</sup>原発adenocarcinoma(EGFR status: exon19



**Figure 3.** a) The pathologic findings of case 1 obtained from the first transbronchial lung biopsy showed adenocarcinoma (H&E staining, original magnification  $\times 200$ ). b) On the second biopsy, the histopathological findings changed to show extensive granulation-fibrosis with a small number of atypical cells (arrow) (H&E staining, original magnification  $\times 200$ ).

deletion), cT2aN2M1a (胸膜播種), c-stage IV と診断した。一次治療は afatinib を投与し partial response (PR) を得ていたが (Figure 2b), 8 ヶ月後に原発巣が増大し progressive disease (PD) と判定し (Figure 2c), 気管支鏡下再生検を施行した。再生検時の気管支鏡では左 B<sup>10</sup>a がほぼ閉塞しており (Figure 2d), EBUS プローブの先端部分は何とか病巣に入り within の所見を得た。しかしそれより奥へはプローブを挿入することはできなかった。EBUS 画像ではプローブから7時~9時方向に屈曲する高エコーがあり (Figure 2e), 病変内の気管支軟骨が変形している状態を推測した。以上のように, 周囲組織の硬化や高度狭窄が生じており, 実際に鉗子による組織採取に難渋した。組織診では肉芽組織と線維化の中にわずかな異型細胞を認めたものの確定診断には至らず (Figure 3b), 細胞診で class V, exon19 deletion を検出するも, exon20 T790M 変異は陰性であった。本症例は二次治療として細胞障害性全身化学療法を選択し, 治療継続中である。

症例 2 : 40 歳代, 男性。

主訴 : 検診胸部異常陰影。

既往歴 : 特記事項なし。

生活歴 : 喫煙 5 本/日  $\times$  10 年。

現病歴 : 職場検診で胸部異常陰影を指摘され, 前医で気管支鏡検査および病理診断が施行されており, 加療目的で当科に紹介受診した。右 S<sup>9</sup> 原発 adenocarcinoma (EGFR status ; exon19 deletion), cT1bN3M1b (骨), c-

stage IV の診断であった (Figure 4a)。

臨床経過 : 一次治療は gefitinb を開始したが, 1 ヶ月後に grade 3 の肝障害が出現したため erlotinib に変更した。PR を維持していたが (Figure 4b), 20 ヶ月後に新規病変 (右被殻および右視床に脳転移出現) および骨病変増悪 (新規に右仙腸関節部, 両側坐骨, 第 9 胸椎) で PD と判定した。原発巣は PR を維持していたが (Figure 4c), 新規病変を含めその他の病変は生検困難な部位に存在したため, 原発巣からの気管支鏡下再生検を施行した。原発巣の EBUS 画像は adjacent to かつ heterogeneous な所見を得た (Figure 4d, 4e)。組織診では肉芽組織を認め, 抗癌剤治療後の瘢痕組織が採取されたと考えられたが, 細胞診ともに悪性細胞を認めなかった。本症例は二次治療として細胞障害性全身化学療法を選択し, 治療継続中である。

症例 3 : 80 歳代, 男性。

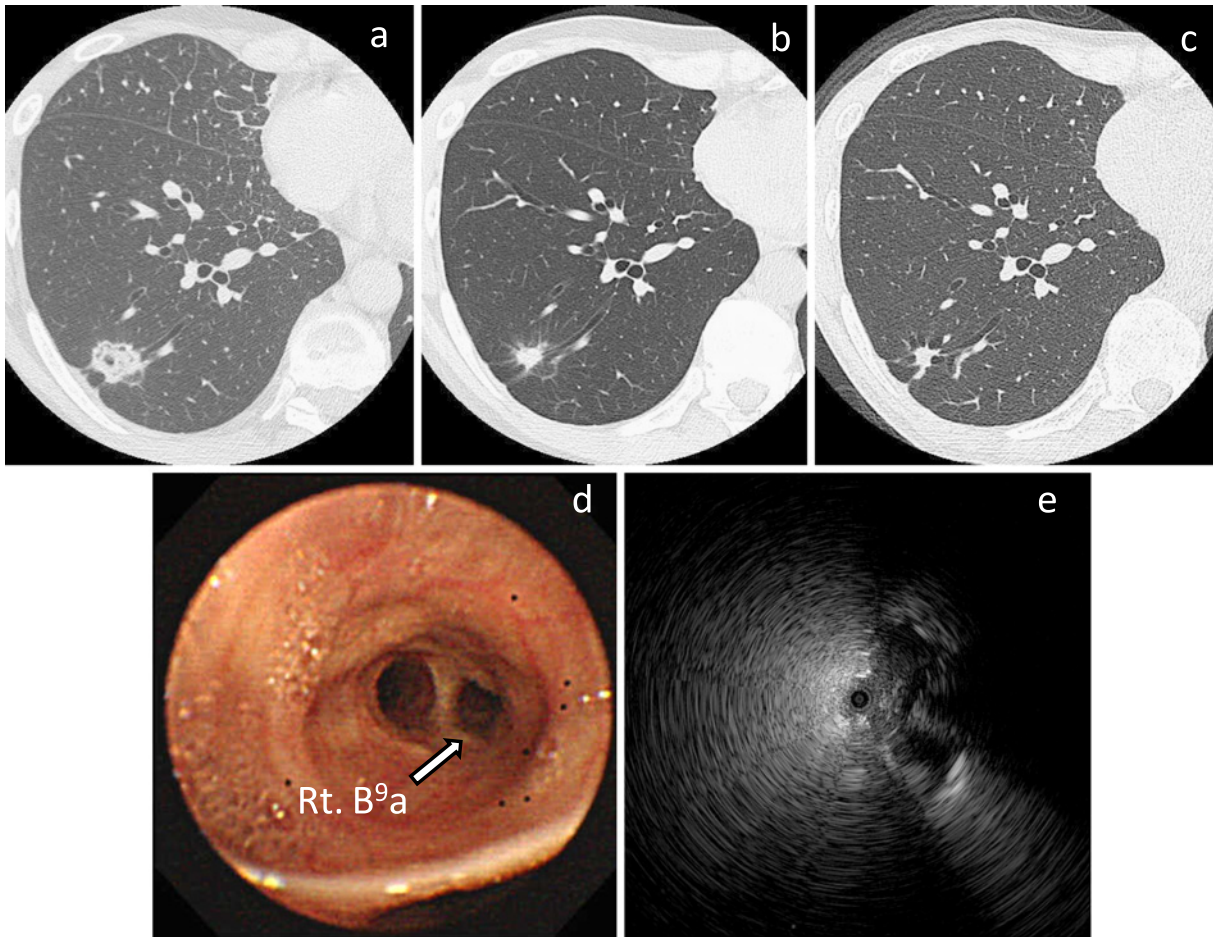
主訴 : 検診胸部異常陰影。

既往歴 : 気管支喘息, 高血圧。

生活歴 : 喫煙 30 本/日  $\times$  27 年。

現病歴 : 肺癌検診で胸部異常陰影を指摘され, 当科紹介受診となった。胸部 CT で左 S<sup>8</sup> に 23 mm の結節を認め (Figure 5a), 精査目的で入院となった。

臨床経過 : 左 S<sup>8</sup> の結節影に対し気管支鏡を施行した。EBUS 画像は within かつ heterogeneous で, 細胞診・組織診 (Figure 6a) ともに腺癌の診断であり, 左 S<sup>8</sup> 原発 adenocarcinoma (EGFR status ; exon21 L858R),



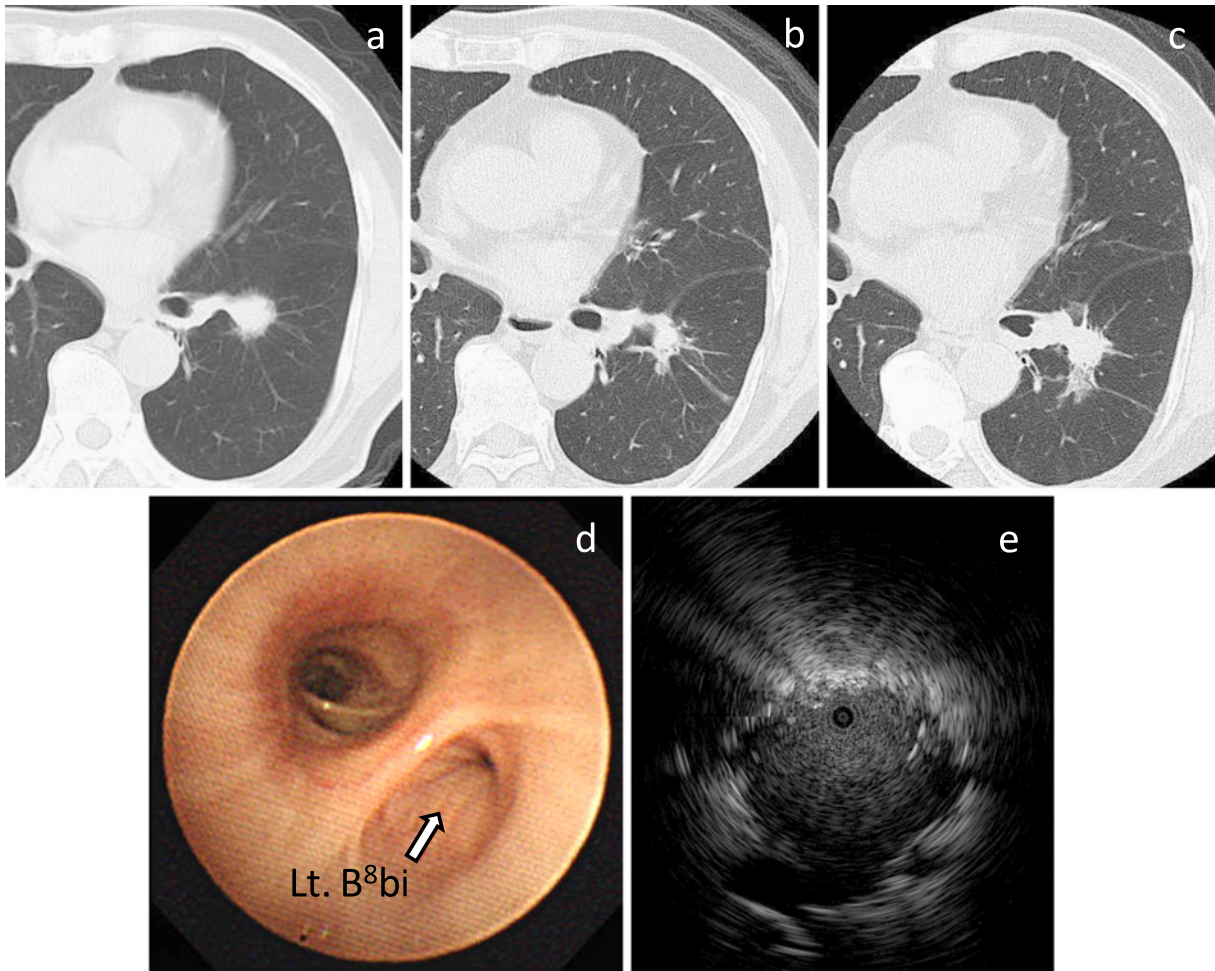
**Figure 4.** A chest CT image showing a lung tumor in the right lower lobe before treatment (a), after the administration of EGFR-TKI (b), after the development of progressive disease of the brain and bone (c). d) The second bronchoscopic view of the access bronchus (right B<sup>9a</sup>). e) An EBUS image showing a heterogeneous lesion adjacent to the probe.

cT1aN0M0, c-stage IA の診断を得た。高齢かつ低肺機能で手術が困難であり、また他肺葉にも複数の ground-glass nodules (GGNs) を認める同時多発型肺腺癌であったため、分子標的薬を投与した。一次治療は gefitinib を投与し 9 ヶ月の PFS を得た後 (Figure 5b), 原発巣 PD で erlotinib に変更し、22 ヶ月の PFS を得たが原発巣再増悪 (Figure 5c) で気管支鏡下再生検を施行した。関与気管支の左 B<sup>8bi</sup> は狭窄を認めたものの EBUS プロブは挿入可能であり、EBUS 画像は初回と同様に within かつ heterogeneous な所見であった (Figure 5d, 5e)。ただし処置中の咳嗽が強かつ出血量も多かったため、生検回数は 2 回に留めた。細胞診は陽性で、exon21 L858R とともに exon20 T790M 変異を検出したが、組織診は毛細血管の増生を伴った肉芽組織と線維化に留まり (Figure 6b)、悪性細胞を認めなかった。

## 考 察

Jekunen は非小細胞肺癌に対する再生検の根拠を簡潔な言葉でまとめている。<sup>3</sup> この中で、再生検が推奨されない場合を、①安全な生検が確保されない困難な病変部位であること、②再生検結果がその後の治療方針を変化させないこと、を挙げている。再生検による T790M の証明が治療方針を大きく変えることになる第 3 世代 EGFR-TKI の導入を目前に控え、他施設においても再生検を行う機会が増えてくるであろうと考えられる。

これまでの再生検の報告は、主に耐性遺伝子の出現頻度とそれに伴う予後の比較が焦点であり、<sup>14</sup> 検体の採取部位や採取方法の記載はあるものの、治療で様々な修飾を受けた原発巣に対する再生検に関する詳細な分析が記載されている報告は極めて少ない。本報告はいずれも EGFR-TKI が奏効し、一定期間後に薬剤耐性を獲得した



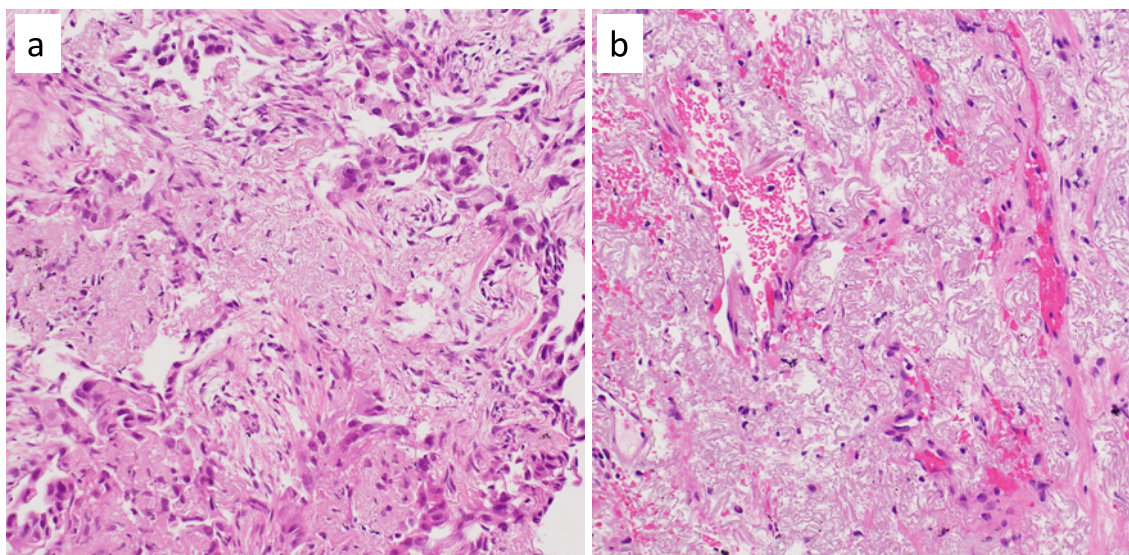
**Figure 5.** A chest CT image showing a lung tumor in the left lower lobe before treatment (a), after the administration of EGFR-TKI (b), after the acquisition of drug resistance (c). d) A second bronchoscopic view of the access bronchus (left B<sup>8</sup>bi). e) An EBUS image showing heterogeneous internal echo within the lesion.

症例であり、原発巣 PD が 2 例、新規他臓器病変(脳・骨)による PD が 1 例含まれ、PD 判断後速やかに気管支鏡下再生検が施行された。

症例 1 は治療前後での EBUS 画像の変化が興味深い症例であり、治療による病変内関与気管支とその周囲の組織性状変化を伴う所見と考えられた。当科ではガイドシース留置後、擦過と生検を交互に 5 回ずつ施行するが、本症例は関与気管支の狭窄が強く、当初生検鉗子が開かず(透視画像の目視)擦過検体採取を先行させた。擦過および生検鉗子の病変内への出し入れを繰り返すに従い、徐々に鉗子操作の抵抗が減り鉗子を開くことが可能となった。しかし非常に硬くかつ微小な組織検体しか得られず、悪性細胞の検出は細胞診検体のみであった。これまでの臨床試験では再生検材料として組織検体を使用している経緯があり、<sup>25</sup> 細胞診検体の活用法とともに、確実に組織検体採取のための生検用器材、生検方法、お

よび生検部位を慎重に検討する必要があると思われる。再生検前の FDG-PET の施行は生検部位選択の一助となると考えられ、症例 1 および 3 は増大した原発巣の FDG 異常集積を確認し得た。一方で事前の CT から病巣硬化を予測することは困難であり、再生検時に EBUS での硬化所見を認めた場合、追加器材として針生検の活用や、今後はクライオバイオプシーなどの新たな技術導入も期待される。

症例 2 は原発巣が PR 維持の一方、他臓器転移の進行で PD と判断された症例である。本症例は転移巣(脳・骨)からの検体採取が困難と考えられ、縮小した肺原発巣からの再生検を試みた。EBUS で病変への到達が確認できたものの、細胞診・組織診ともに悪性細胞の検出には至らなかった。脳脊髄液からの耐性遺伝子検出頻度は低く、<sup>46</sup> また外科的肺生検や骨生検も考慮されるが、処置に伴うリスクや診断率を踏まえた慎重な適応判断が必



**Figure 6.** a) The pathologic findings of case 3 obtained in the first transbronchial lung biopsy showed adenocarcinoma (H&E, original magnification  $\times 200$ ). b) On the second biopsy, histopathological findings were mainly granulation-fibrosis with capillary growth (H&E, original magnification  $\times 200$ ).

要である。今後このような症例は増えると思われ、リキッドバイオプシーの導入などの新しいアプローチが有用であると考えられた。

症例3は症例1と同様に細胞診のみ陽性であった。本症例は強い咳嗽と病変部の出血により、鉗子生検を2回に留めたことも組織診陰性の原因であると考えられるが、採取された組織検体はいずれも間質組織と報告され、治療による瘢痕化などの影響を受けたものと考えられた。

以上の症例観察から、気管支鏡下再生検に際しては同一症例の初回気管支鏡検査と比較し、①生検対象病変の病変径、②関与気管支の狭窄度、③病変の線維化（硬化度）、④出血リスクなど、複数の要因により組織検体採取の難易度が上昇すると考えられた。また検体採取が可能であっても、治療の影響で病変が肉芽組織に変化し、悪性細胞の検出が困難な場合があることが病理所見から推察された。これに加え治療経過中に T790M 変異が動的に陽転化あるいは陰転化する報告<sup>7</sup>がある一方、当初 T790M 変異陰性であったものは、後治療を経ても検出頻度は低いとの報告<sup>6</sup>もあり、同一症例での遺伝子変異の病変部位による不一致も指摘されている。<sup>6</sup> 今後、T790M 変異の検索を目的とした再生検が広く行われると予想されるが、現在本邦での保険診療内では EGFR 遺伝子変異の検索回数が限定されているため、至適な再生検時期も検討していく必要がある。T790M 変異の検出感度を高めるためには、PD による EGFR-TKI 投与終了後、速やかな再生検の施行が望ましいと考え、本症例は

いずれもその時機に再生検を実施した。しかし実臨床では EGFR-TKI 投与終了後に細胞障害性抗癌剤を使用継続中の症例もあり、各種抗癌剤投与中あるいは投与後に施行した再生検での耐性細胞検出率の比較も重要である。リキッドバイオプシーによる非侵襲的診断の実用化が期待される一方、局所の病理を反映できる気管支鏡下再生検は今後も相応に必要な手技であると考えられ、正確な遺伝子学的診断を得るための適切な生検部位の選定、各種生検手技の工夫と組み合わせ、および適切な生検時期について、今後知見の集積と解析が必要と考えられた。

## 結語

今回3例の原発巣に対する気管支鏡下での再生検を経験したが、治療による組織性状の変化や腫瘍径縮小により組織検体の採取は困難であった。再生検結果によりその後の治療方針が変化する時代を迎えるにあたり、確実な採取が可能な再生検を行うためには、対象病変の選定、組織採取方法および再生検時期について、症例を集積し検討を進めていく必要があると考えられた。

本論文内容に関連する著者の利益相反：なし

謝辞：本症例の病理学的所見につきご教示いただきました。当院病理部有泉泰先生、防衛医科大学校病態病理学講座宮居弘輔先生に深謝申し上げます。

本論文の要旨は第 174 回日本肺癌学会関東支部学術集会で発表した。

#### REFERENCES

1. Yu HA, Arcila ME, Rekhtman N, Sima CS, Zakowski MF, Pao W, et al. Analysis of tumor specimens at the time of acquired resistance to EGFR-TKI therapy in 155 patients with EGFR-mutant lung cancers. *Clin Cancer Res.* 2013;19:2240-2247.
2. Jänne PA, Yang JC, Kim DW, Planchard D, Ohe Y, Ramalingam SS, et al. AZD9291 in EGFR inhibitor-resistant non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2015;372:1689-1699.
3. Jekunen AP. Role of rebiopsy in relapsed non-small cell lung cancer for directing oncology treatments. *J Oncol.* 2015;2015:809835.
4. Hata A, Katakami N, Yoshioka H, Takeshita J, Tanaka K, Nanjo S, et al. Rebiopsy of non-small cell lung cancer patients with acquired resistance to epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor: Comparison between T790M mutation-positive and mutation-negative populations. *Cancer.* 2013;119:4325-4332.
5. <http://www.fda.gov/Drugs/InformationOnDrugs/ApprovedDrugs/ucm472565>
6. Hata A, Katakami N, Yoshioka H, Kaji R, Masago K, Fujita S, et al. Spatiotemporal T790M Heterogeneity in Individual Patients with EGFR-Mutant Non-Small-Cell Lung Cancer after Acquired Resistance to EGFR-TKI. *J Thorac Oncol.* 2015;10:1553-1559.
7. Kuiper JL, Heideman DA, Thunnissen E, Paul MA, van Wijk AW, Postmus PE, et al. Incidence of T790M mutation in (sequential) rebiopsies in EGFR-mutated NSCLC-patients. *Lung Cancer.* 2014;85:19-24.