がん遺伝子パネル検査を契機に病理診断が修正された 中咽頭明細胞癌の1例

越 塚 慶 一 山 崎 一 樹 木 下 崇
飯 沼 智 久 米 倉 修 二 花 澤 豊 行

要 旨

標準治療が終了となった肺転移を伴う中咽頭癌患者に対して、がん遺伝子パネル検査を行った結果、扁平上皮癌から明細胞癌に病理学的診断が修正された患者を経験したので報告する。症例は57歳、女性、中咽頭扁平上皮癌、HPV陰性、cT3N2bMX。シスプラチン併用放射線治療を施行したが、肺転移を疑っていた病変が増大した。ニボルマブ投与を行ったが、肺転移は更に増大し、セツキシマブ+パクリタキセル投与を開始した。その後、標準治療終了後の固形がんとしてがん遺伝子パネル検査を行った。治療対象となる遺伝子異常は認められなかったが、EWSR1-ATF1融合遺伝子が検出された。この遺伝子は唾液腺明細胞癌の80～90%の症例に検出される。この結果から、病理診断が扁平上皮癌から明細胞癌に修正された。後方視的に組織を確認しても、明細胞癌の診断は困難であり、がん遺伝子パネル検査が診断修正の契機となった症例であった。

キーワード：中咽頭癌、がん遺伝子パネル検査、明細胞癌

A case report of oropharyngeal clear cell carcinoma with revised pathological diagnosis after multi-gene cancer panel testing:

Keiichi Koshizuka, Kazuki Yamasaki, Takashi Kinoshita, Tomohisa Iinuma, Syuji Yonekura and Toyoyuki Hanazawa

Department of Otorhinolaryngology/Head and Neck Surgery, Chiba University Graduate School of Medicine

Summary

We report our experience of a patient with oropharyngeal carcinoma with lung metastasis, whose pathological diagnosis was changed from squamous cell carcinoma to clear cell carcinoma consequent to multi-gene cancer panel testing after completion of standard treatment. The patient was a 57-year-old woman diagnosed with oropharyngeal squamous cell carcinoma, HPV negative, cT3N2bMx. She underwent cisplatin concomitant radiotherapy, but a lung lesion suspected of metastasis showed progression. Nivolumab was administered, but the lung lesion progressed further, and the chemotherapy regimen was changed to cetuximab plus paclitaxel. Multi-gene cancer panel testing was performed as the standard treatment had been completed. Although no genetic abnormality leading to treatment was found, the *EWSR1-ATF1* fusion gene was detected. This fusion gene is detected in 80-90% of cases of salivary gland clear cell carcinoma. Based on the re-examination with this result, the pathological diagnosis was revised from squamous cell carcinoma to clear cell carcinoma. The diagnosis of clear cell carcinoma was difficult, even by retrospectively examining the tissue, and multi-gene cancer panel testing was the trigger for the revision in diagnosis.

Key words : Oropharyngeal cancer, Multi-gene cancer panel testing, Clear cell carcinoma

[Received Jan. 26, 2021, Accepted Mar. 16, 2021]

はじめに

がん遺伝子パネル検査は、生検や手術などで採取されたがん組織から、予め設定された多数の遺伝子の解析を、次世代シーケンサーを用いて行う検査である。本邦では2019年6月に保険収載され、日常診療に行われるようになってきた。保険診療の対象は、標準治療がない固形がん患者または局所進行/転移が認められ標準治療が終了となった固形がん患者となっている。当科でも標準治療が終了となった患者に対して、積極的に検査を行なっている。今回、標準治療が終了となった肺転移を有する中咽頭癌患者に対して、がん遺伝子パネル検査を行った結果、扁平上皮癌から明細胞癌に病理学的診断が修正された患者を経験したので報告する。

症 例

現病歴：57歳、女性。

既往歴：子宮筋腫にて53歳時に子宮全摘術施行。

生活歴：喫煙なし、飲酒なし。1ヶ月前からの咽頭痛のため近所の耳鼻咽喉科を受診したところ、左口蓋扁桃に腫脹を認め、抗生剤加療を行われた。しかし、症状の改善を

認めず、腫瘍性病変の可能性がある判断され、総合病院耳鼻咽喉科へ紹介となった。左口蓋扁桃からの生検で低分化型扁平上皮癌と診断された。また、HbA1c 11.9の重症2型糖尿病を指摘されたため、精査とインスリン導入目的に総合病院内科で11日間の入院加療を行った。退院後、中咽頭癌の治療目的に当科に紹介となった。

初診時の初見：左口蓋扁桃が正中に達するまで腫大し、尾側は咽頭喉頭蓋ヒダに接していた。左口蓋扁桃の表面は比較的平滑で、潰瘍形成や血管不正などは認めなかった。造影CT、造影MRIでは左口蓋扁桃に37×30×44mmの造影される腫瘍を認め、左上内深頸リンパ節に複数の腫大したリンパ節を認めた(図1)。リンパ節の節外浸潤を疑う所見はなかった。胸部CTでは左肺S4に転移を否定できない6mmの小結節影を認めた。コントロール不良の糖尿病のため、PET/CTは施行できなかった。

前医生検標本ではp16免疫染色が施行されていなかったため、当科において左口蓋扁桃より再度生検を施行した。クロマチン濃染を示す類円形腫大核と好酸性胞体を有する比較的N/C比の高い異型細胞がシート状、びまん性に線維性結合組織内を浸潤増殖しており、細胞間橋を認めるが、明らかな層状角化や癌真珠を認めなかった(図2)。

図1 初診時画像検査所見

上段：頸部造影CTにおいて、左口蓋扁桃に造影効果を有する37×30×44mmの腫瘍(白矢頭)と左上内深頸リンパ節の腫大を認める(黒矢頭)。

下段右：咽頭内視鏡検査において左口蓋扁桃に隆起性の腫瘍を認める。粘膜表面は平滑であった(黒矢印)。

下段左：胸部CTにおいて、左肺S4に6mmの小結節影を認める(白矢印)。

免疫染色では p40 (+), CK5/6 (+), CK AE1/AE3 (+) であり, 低分化型扁平上皮癌で矛盾しない結果であった。p16 免疫染色は陰性, human papillomavirus (HPV)-in situ hybridization も陰性であった。以上より, 左中咽頭低分化扁平上皮癌, HPV 陰性, cT3N2bMX の診断となった。肺転移の確定診断は困難であったため, 局所の根治を目的に, シスプラチン (CDDP) 併用放射線治療 (concurrent chemoradiotherapy : CCRT) の方針となった。

放射線治療開始と同時に CDDP 100mg/m² の投与を 3 週ごとに 2 回施行した。40Gy 照射の時点で造影 CT にて中間評価を行ったところ, 中咽頭の原因巣や頸部リンパ節

は縮小傾向を認めるが残存しており, 肺結節は増大傾向と新規病変の出現を示した (図 3)。この経過から肺病変は肺転移と判断し, Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST) の progressive disease (PD) 判定となった。放射線治療は 60Gy で終了とし, CDDP の 3 回目の投与は行わなかった。CCRT 終了後 6 週目の造影 CT においても, さらなる肺転移の増大を認めた。プラチナ抵抗性と判断し, 治療終了後 12 週目にニボルマブ投与を開始した。ニボルマブを 5 回投与した CCRT 後 22 週目に, 造影 CT にて効果判定を行ったところ, 肺転移の更なる増大を認めた。ニボルマブ投与を終了とし, CCRT 後 25 週目よ

図 2 左口蓋扁桃腫瘍病理組検査所見

左 : クロマチン濃染を示す類円形腫大核と好酸性胞体を有する比較的 N/C 比の高い異型細胞が間質に浸潤している。層状角化や癌真珠は認めない (HE 染色, 弱拡大)。
右 : 淡明または好酸性の細胞質を有する明細胞 (白矢頭) を認めた。細胞間橋 (黒矢頭) の存在を認めた (HE 染色, 強拡大)。

図 3 治療経過中の胸部 CT 検査所見

左 : CCRT 施行中, CDDP 100mg/m² を 2 回投与, 40Gy 時点での胸部 CT 所見。多発性肺転移を認める (矢頭)。
右 : がん遺伝子パネル検査施行時の胸部 CT 所見。多発性肺転移の増大を認める (矢印)。

りパクリタキセル (PTX), セツキシマブ (Cmab) 投与を開始した。PTX + Cmab 投与7コース後の治療効果判定は stable disease (SD) であったため、以後投与継続の方針とした。当院におけるがん遺伝子パネル検査の診療体制が整ったタイミングであったこと、すでに中咽頭扁平上皮癌治療の標準治療を終了していること、将来的に PTX + Cmab 投与の副作用と治療効果の限界が予想されることなどの点から、CCRT 後 42 週目の CT でも肺転移は緩徐に増大傾向を示していたため (図 3), がん遺伝子パネル検査についてインフォームドコンセントを行った。パネル検査の同意が得られたため CCRT 後 44 週目に検査を施行した。検査の結果、いくつかの遺伝子異常を認めたものの、治療に結びつく遺伝子異常は認められず、推奨される治療を見出すことは出来なかったが、EWSR1-ATF1 融合遺伝子が検出された。病理診断医に EWSR1-ATF1 融合遺伝子の検出を報告し、改めて病理検体の精査を依頼した。免疫染色検査では、陽性: CK AE1/AE3, p40, CK5/6, CK7, vimentin, CAIX, 陰性: HMB-45, Melan-A, CD56, chromogranin A, Synaptophysin, CK20 であり、EWSR1-ATF1 融合遺伝子の検出と併せて、唾液腺上皮由来の明細胞癌の診断となった。病理診断の変更となったが、肺転移を伴う唾液腺明細胞癌に有効な治療法はなく、PTX+Cmab 投与を継続しているが、CCRT 後 62 週時点においても徐々に肺転移の増大を認めている。

考 察

がん遺伝子パネル検査は、がん検体から複数の遺伝子変異を次世代シーケンサーを用いて検出する検査である。本邦では 2019 年 6 月に保険収載され、2020 年現在、「OncoGuide™ NCC オンコパネル」および「FoundationOne® CDx がんゲノムプロファイル」が利用可能である。保険診療の対象は、標準治療がない固形がん患者、または局所進行/転移が認められる標準治療が終了となった固形がん患者となっている。腫瘍の種類によって異なるが、約半数の症例で治療対象の可能性のある遺伝子変異が検出されるが、治療に結びつく症例は 10% 程度とされている¹⁾。当科においても、標準治療の終了した患者に対して、FoundationOne® CDx がんゲノムプロファイルを中心に積極的にがん遺伝子パネル検査を行っている。特に手術以外の治療法が確立されていない唾液腺癌においては、検査の有用性に期待している。従来、がん遺伝子検査として、肺癌における EGFR や ROS1, 大腸癌における K-ras, 甲状腺癌における RET など、特定の疾患に対して特定の遺伝子検査が行われている。しかし、次々と新規分子標的薬が開発され、また多分子を標的とする薬剤も登場しており、現在では疾患特異的な遺伝子変異のみならず、臓器横断的な遺伝子変異の検出が必要となっている。がん遺伝子パネル検査は 100 種類を超える遺伝子変異が網羅的に検出可能であり、がんゲノム医療を更に推進していく技術とされる。例えば Entrectinib は癌腫を問わず NTRK 融合遺伝子陽

性の固形がんに適応があり、NTRK 融合遺伝子陽性はがん遺伝子パネル検査でのみ判定される。頭頸部癌領域では唾液腺癌や甲状腺癌の一部での使用報告がされている²⁾。

このような背景から、頭頸部癌においてもがん遺伝子パネル検査は標準的に行われる検査となることが予想される。しかし、がん遺伝子パネル検査は標準治療が終了する段階もしくは終了しつつある段階に行うとされており、また検査の特性上、検査結果は検査依頼から約 2 ヶ月後に判定されるため、検査を行うタイミングを見極めることは難しい。また、検査の結果、推奨される治療が見出されても患者の体力がなく治療にたどり着けない場合には、検査の意義そのものがなくなることになる。頭頸部癌では切除不能/再発転移症例において、免疫チェックポイント阻害薬である Nivolumab や Pembrolizumab が、標準治療として使用されるようになり、プラチナ耐性の有無からシークエンシャルな薬剤選択がされるようになりつつある^{3,4)}。そして、その効果が不十分な場合には、殺細胞性抗癌剤治療が行われることとなり、本邦では PTX + Cmab, PTX, ドセタキセル (DTX), テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム (S-1) の投与が行われている⁵⁾。これらの薬剤選択には十分なエビデンスがないため、それぞれの患者状態や患者の希望、主治医の判断により治療が選択されているが、我々は、このタイミングこそががん遺伝子パネル検査を行うタイミングと考えている。患者の performance status (PS) や日常生活動作が良好な時期にがん遺伝子パネル検査を行い、二次治療以降の治療選択肢を確認しておくことは医療者と患者双方にとって有用である。頭頸部癌治療に携わる医師は、がん遺伝子パネル検査を十分に理解し、適切なタイミングで患者に提示することで、患者の検査利益を損失することのないよう努力する必要がある。

今回経験した明細胞癌 (clear cell carcinoma, CCC) は腎臓や卵巣などに多く、頭頸部領域には稀である。口腔内小唾液腺由来の CCC は唾液腺腺管上皮より発生したものと考えられ、唾液腺原発悪性腫瘍の 1% 以下とされる^{6,7)}。低悪性度癌であり、治療後の局所再発や遠隔転移は稀で、10 年生存率は約 90% と報告されている⁶⁾。病理学的にはグリコーゲンによる明るい細胞質と、腫瘍間質の繊維化・硝子化が特徴的であるが、特異的な免疫組織学的マーカーは報告されていない。本症例では腫瘍の間質に線維化の所見は認めたが、硝子化は認められなかった。明らかな角化や癌真珠の形成は認めなかったが、細胞間橋が存在していた。淡明または好酸性の細胞質を有する明細胞を認めたが、典型的な明細胞癌の所見ではなく、扁平上皮癌マーカーの結果からも低分化扁平上皮癌として矛盾はないと判断された (表 1)。

2011 年に Antonescu らによって、本腫瘍に特異的な t (12; 22) (q13; q12) /EWSR1-ATF1 融合遺伝子が報告された⁸⁾。EWSR1 は様々な機能を有し、転写因子、スプライシング因子として機能している。ATF1 は cAMP およびカルシウムイオンにより誘導される転写因子である。

表 1 本症例における免疫組織染色結果のまとめ

本症例の結果	抗体	陽性を示す主な組織型	診断的意義
陽性（初診時）	CK AE1/AE3	上皮細胞, 上皮性癌細胞	低分化癌と非上皮性悪性腫瘍との鑑別
	p40	扁平上皮癌	扁平上皮癌の鑑別
	CK5/6	扁平上皮癌	扁平上皮癌と腺癌の鑑別
陽性（追加検査時）	CK7	上皮細胞	扁平上皮癌では陰性
	Vimentin	間葉系細胞	上皮性と非上皮性との鑑別。低分化癌では陽性になりうる
	CAIX	腎明細胞癌	腎明細胞癌の鑑別
陰性	HMB-45	悪性黒色腫, 明細胞肉腫	明細胞肉腫の鑑別
	Melan A	悪性黒色腫	悪性黒色腫の鑑別
	CK20	上皮細胞, 上皮系癌細胞	大腸癌等は陽性, 扁平上皮癌は陰性
	CD56	神経内分泌腫瘍, NK 細胞	神経内分泌腫瘍の鑑別, NK 細胞性マーカー
	chromogranin A	神経内分泌腫瘍	神経内分泌腫瘍の鑑別
	Synaptophysin	神経内分泌腫瘍	神経内分泌腫瘍の鑑別

EWSR1-ATF1 融合遺伝子は cAMP 誘導とは無関係に腫瘍増殖・生存に関連する遺伝子の転写を活性化すると考えられている。EWSR1-ATF1 融合遺伝子は唾液腺明細胞癌の 80～90% の症例に検出され, その検出は組織診断の補助として有用である⁹⁾。本融合遺伝子は明細胞肉腫, 血管腫型線維性組織球症, 皮膚筋上皮腫瘍などにも認められる。CCC の治療法は, 十分な安全域を含めた外科的切除が基本とされており, 手術以外に有用な治療法は報告されていない。大規模データベースを用いた CCC 268 例の後ろ向き臨床研究では, 発生部位は口腔 (44%), 大唾液腺 (25%), 咽喉頭 (15%) の順に多く, ほとんどの腫瘍が低悪性度 (68%) であり, 遠隔転移は稀 (2.4%) であった¹⁰⁾。治療法は 50% の症例が手術単独で, 25.7% の症例が手術 + 放射線治療が行われており, 5 年全生存率は 77.6% であった。また, 52 例の CCC についての報告では肺転移を認めたのは 1 例 (2%) のみであった⁷⁾。CCC の中には, 遠隔転移・再発を来した aggressive variant の報告もある¹¹⁾。今回の症例は初診時より肺転移を認め, 化学療法抵抗性に増大傾向を示しており, aggressive variant である可能性が高い。CCC では病理学的な悪性度分類基準は定められておらず, Weinerb は壊死, 高い有糸分裂指数, 著しい多形性を持つ症例を高悪性と分類しているが, 本症例は高悪性には該当しなかった¹²⁾。

本症例では扁平上皮癌マーカーが陽性であったが, 追加の免疫染色検査では CK7, vimentin, CAIX が陽性となり, EWSR1-ATF1 融合遺伝子の検出と合わせて, 扁平上皮癌から明細胞癌に診断が修正された (表 1)。後方視的に初診時の病理検体を病理診断医と共に確認したが, 低分化扁平上皮癌を否定するような組織像ではなく, 頻度からも明細胞癌と診断することは難しかったと考えられた。Bishop らは中咽頭扁平上皮癌と唾液腺由来 CCC の鑑別診断の難しさについて, CCC の確定診断が得られた 16 例の中で, 7 例が扁平上皮癌や粘表皮癌と診断されていたと報告している¹³⁾。病理学的に明細胞に乏しく, 扁平上皮化を認める症例を CCC と診断することは困難で, EWSR1-ATF1 融

合遺伝子の確認が必要であると述べている。また, 16 例の中には p16 免疫染色が陽性と判断される症例も認められたが, HPV in situ hybridization は陰性であったと報告しており, p16 が陽性であっても CCC を否定し, 扁平上皮癌と診断することはできない。

本症例は喫煙や飲酒歴のない女性の HPV 陰性の中咽頭癌であり, 一般的な中咽頭扁平上皮癌の患者像とは異なっていた点から, 扁平上皮癌以外の癌腫である可能性を考えるべきであった。そして, そのような臨床的矛盾を病理診断医に伝えることで, 治療前の時点で正確な診断ができた可能性もあったと反省している。本症例では初診時から肺転移を疑う所見があったため, 手術加療の選択肢は検討しなかった。しかし, 遠隔転移のない扁平上皮癌以外の中咽頭癌では, 治療の第一選択肢は手術加療であり, 改めて病理診断の重要性を実感したため, ここに報告した。

ま と め

がん遺伝子パネル検査を行った結果, 扁平上皮癌から明細胞癌に病理学的診断が修正となった肺転移を伴う中咽頭癌症例を経験した。

本論文の内容に関連して開示すべき利益相反はない。

謝 辞

病理組織学的考察, 論文作成にご協力頂いた千葉大学大学院医学研究院病態病理学講座の岸本 充先生に深謝致します。

がん遺伝子パネル検査実施, 論文作成にご協力頂いた千葉大学大学院医学研究院臨床腫瘍学講座の新井誠人先生に深謝致します。

文 献

- 1) Sunami K., Ichikawa H., Kubo T., et al: Feasibility and utility of a panel testing for 114 cancer-associated genes in a clinical setting: A hospital-based study. *Cancer Sci* 110(4) : 1480-1490, 2019
- 2) Doebele R.C., Drilon A., Paz-Ares L., et al: Entrectinib in patients with advanced or metastatic NTRK fusion-positive

- solid tumours: integrated analysis of three phase 1-2 trials. *Lancet Oncol* 21(2) : 271-282, 2020
- 3) Ferris R.L., Blumenschein G., Jr., Fayette J., et al: Nivolumab for Recurrent Squamous-Cell Carcinoma of the Head and Neck. *N Engl J Med* 375(19) : 1856-1867, 2016
- 4) Burtneß B., Harrington K.J., Greil R., et al: Pembrolizumab alone or with chemotherapy versus cetuximab with chemotherapy for recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck (KEYNOTE-048): a randomised, open-label, phase 3 study. *Lancet* 394(10212) : 1915-1928, 2019
- 5) 日本臨床腫瘍学会：頭頸部がん 薬物療法ガイドライン第2版, 金原出版株式会社, 2018.
- 6) Sicurella F., Gregorio A., Stival P., et al: Clear cell carcinoma of minor salivary gland of the tongue. *Acta Otorhinolaryngol Ital* 24(3) : 157-160, 2004
- 7) Solar A.A., Schmidt B.L., Jordan R.C.: Hyalinizing clear cell carcinoma: case series and comprehensive review of the literature. *Cancer* 115(1) : 75-83, 2009
- 8) Antonescu C.R., Katabi N., Zhang L., et al: EWSR1-ATF1 fusion is a novel and consistent finding in hyalinizing clear-cell carcinoma of salivary gland. *Genes Chromosomes Cancer* 50(7) : 559-570, 2011
- 9) Seethala R.R., Stenman G.: Update from the 4th Edition of the World Health Organization Classification of Head and Neck Tumours: Tumors of the Salivary Gland. *Head Neck Pathol* 11(1) : 55-67, 2017
- 10) Oliver J., Wu P., Chang C., et al: Patterns of Care and Outcome of Clear Cell Carcinoma of the Head and Neck. *Otolaryngol Head Neck Surg* 161(1) : 98-104, 2019
- 11) O'Regan E., Shandilya M., Gnepp D.R., et al: Hyalinizing clear cell carcinoma of salivary gland: an aggressive variant. *Oral Oncol* 40(3) : 348-352, 2004
- 12) Weinreb I.: Hyalinizing clear cell carcinoma of salivary gland: a review and update. *Head Neck Pathol* 7 (Suppl 1) : S20-S29, 2013
- 13) Bishop J.A., Rooper L.M., Chiosea S.I., et al: Clear Cell Carcinoma of Salivary Glands Is Frequently p16 Positive: A Pitfall in the Interpretation of Oropharyngeal Biopsies. *Am J Surg Pathol* 42(3) : 367-371, 2018