

IASLC/ATS/ERS 分類に基づいた肺腺癌組織亜型の 分子生物学的特徴

—既知の予後予測マーカーとの関連—

佐藤克明 須田健一 水内 寛 小林祥久 下治正樹
富沢健二 武本智樹 岩崎拓也 阪口全宏 光富徹哉

近畿大学医学部外科学講座呼吸器外科部門

抄 録

肺腺癌における IASLC/ATS/ERS 分類が2011年に発表され, その予後予測因子としての役割や分子病理学的特徴が報告されつつある。肺腺癌においてはこれまでも上皮間葉転換マーカーや癌幹細胞関連マーカーなどが予後予測因子として報告されているが, IASLC/ATS/ERS 分類とこれらの分子マーカーとの関連は不明である。2007-2009年の原発性肺腺癌切除例161名を対象とし, IASLC/ATS/ERS 分類と上記分子マーカーとの関連を検討した。患者の内訳は, 男性74名 (46%), 年齢中央値68歳, 喫煙者78名 (52%), CEA 高値54名 (34%), 病理病期 I : 111名 (69%), II : 25名 (16%), III : 23名 (14%), IV : 2名 (1%) であった。病理学的には, 微小浸潤癌1名, 浸潤性粘液産生性腺癌9名, 浸潤腺癌151名であった。浸潤腺癌は既報に準じて low grade (lepidic/papillary/acinar) 129名と high grade (micropapillary/solid) 22名に分類した。浸潤性粘液産生性腺癌と浸潤腺癌との間に臨床背景の差は無かったが, 免疫組織化学染色では前者で癌幹細胞関連マーカーの発現率が有意に高かった。浸潤腺癌においては, high grade の症例で若年, 喫煙者, CEA 高値例, 進行例が有意に多かった。また high grade 症例では Mib-1 index 高値例, TTF-1 陰性例, vimentin 発現例, E-cadherin 発現低下例, P-glycoprotein 発現例の割合が有意に多かった。本研究において IASLC/ATS/ERS 分類による組織形態と様々な分子マーカーとの関連を認めた。

Key words : 上皮間葉転換, 癌幹細胞関連マーカー, 予後予測因子, 免疫組織化学染色

緒 言

肺癌は癌関連死亡の第1位であり年間7万人以上の日本人が肺癌で死亡している。肺癌はその形態学的所見により, 腺癌, 扁平上皮癌, 大細胞癌, 小細胞癌などの組織型に分類され, そのうち本邦で最も頻度の高い肺腺癌は, 男性肺癌の約40%, 女性肺癌の約70%を占める¹。しかし, 肺腺癌自体も均一な疾患ではなく, さまざまな病理形態学的所見をとることが知られている。これらの形態学的所見には, lepidic (肺胞上皮置換型), papillary (乳頭型), acinar (腺房型), solid (充実型), micropapillary (微小乳頭型) があり, また, 肺腺癌の中には多量の粘液産生を伴うものもある。しかし実際には, 多くの肺腺癌はこれらのうち2種類以上の形態を有することが

多い。このため, これまでの2004年の World Health Organization (WHO) 分類では, 肺腺癌のうち約90%の症例が mixed subtype (混合型) に分類されてしまい, 組織亜型分類としては意味を成さないものとなっていた²。

この問題を解決するため, 国際肺癌学会 (International Association for the Study of Lung Cancer : IASLC), 米国胸部学会 (American Thoracic Society : ATS), 欧州呼吸器学会 (European Respiratory Society : ERS) が共同で肺腺癌の分類を改訂した³。具体的には, 肺腺癌全体を前浸潤病変 (pre-invasive lesion), 微小浸潤病変 (minimally-invasive adenocarcinoma), 浸潤腺癌 (invasive adenocarcinoma) の3つに分けたこと, BAC (bronchioloalveolar carcinoma) を廃止して AIS

(adenocarcinoma in situ) を導入したこと、また浸潤腺癌においては優勢像 (predominant pattern) による亜型に分けたことである。現在の標準は WHO 分類で、今回の改訂はまだ世界的な承認が得られたわけではないが、次期 WHO 分類の中心になると考えられており、IASLC/ATS/ERS 分類は大きな注目を集めている。

IASLC/ATS/ERS 分類を行う重要なメリットの一つとして、肺腺癌外科切除例において予後予測マーカーとなりうるものが挙げられる。具体的には lepidic predominant は予後良好であり、papillary predominant と acinar predominant は中間、solid predominant と micropapillary predominant は予後不良であることが報告されている⁴⁻⁷。そこで、papillary predominant と acinar predominant、solid predominant と micropapillary predominant をまとめて Grade 分類とすることも多い^{4,6,8}。

一方、肺腺癌外科切除例の予後予測因子としては、これまでも多くの分子マーカーが報告されている。具体的には、Thyroid Transcription Factor-1 (TTF-1) 陰性症例は予後不良⁹⁻¹³、Mib-1 index 高値症例は予後不良¹⁴⁻²⁰、上皮間葉転換 (epithelial to mesenchymal transition: EMT) マーカーや癌幹細胞 (cancer stem cell: CSC) 関連マーカー陽性症例は予後不良²¹⁻²⁴ との報告がある。しかし、IASLC/ATS/ERS 分類とこれらの分子マーカーとの関連は不明である。

本研究では、IASLC/ATS/ERS に基づいた分類を行い、組織マイクロアレイ (tissue microarray: TMA) を作成した。上記の分子マーカーのタンパク発現を解析し、IASLC/ATS/ERS 分類に基づく優勢組織型との関連を検討した。

対象および方法

1. 対象

2007年1月～2009年4月までに当科にて手術を施行した原発性肺癌患者253名のうち、最終病理診断にて肺腺癌と診断された169名を対象とした。すべての原発巣について、病理医を含む2名の研究者(清水/佐藤)により組織型およびその割合を決定した。優勢組織型の判断に関しては、定義に基づき半分に満たなくても最も優勢な組織像を採用することとした。組織マイクロアレイを作成すると検体のほとんどを使用してしまうと考えられる微小肺腺癌8名については、本研究より除外した。

本研究の対象とした全161名の内訳は、男性74名(46%)、年齢(39-83歳、中央値68歳)、喫煙者78名(52%)であった。全161名のうち151名が2群縦隔り

ンパ節郭清を伴う肺葉切除以上の肺切除を施行され、10名が区域切除または部分切除による縮小手術を施行された。病理病期はIA期79名、IB期32名、IIA期13名、IIB期12名、IIIA期21名、IIIB期2名、IV期2名であった。

2. 組織マイクロアレイの作成

肺癌は heterogeneity の高い腫瘍であり、全161症例において、優勢組織型を第一候補、その他の亜型を第二候補として選択し、それぞれ直径2mmのコアで採取して再包埋し、組織マイクロアレイを作成した²⁵。

3. 免疫組織化学染色

免疫組織化学染色 (Immunohistochemistry: IHC) は、TTF-1 (M3575, Dako, Japan), Mib-1 (M7240, Dako, Japan), vimentin (5741S, CST, Japan), E-cadherin (3195S, CST, Japan), P-glycoprotein (ab3366, abcam, Japan), ALDH1A1 (ab52492, abcam, Japan) について行った。染色方法はそれぞれの販売元の示すプロトコールに従った。TTF-1, vimentin, P-glycoprotein, ALDH1A1 に関しては、5%以上の腫瘍細胞の染色で陽性と判定した。E-cadherin に関しては、5%以上の腫瘍細胞で発現低下を認めたものを発現低下と判定した。Mib-1 index に関しては、10%以上・未満で分類した (図1-3)。

4. 統計学的解析

統計解析には JMP11 (SAS Institute Japan) を

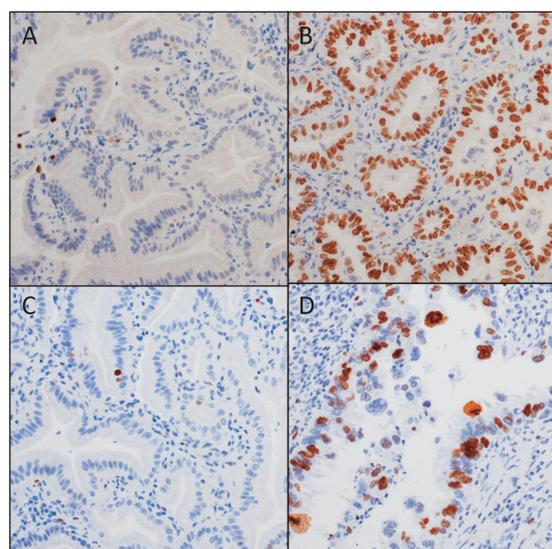


図1 免疫組織化学染色の例 (TTF-1 及び Mib-1) (200倍)

TTF-1 は核に染色される。陰性例(A)と陽性例(B)の具体例を示す。Mib-1 も核に染色される。Mib-1 index < 10%(C)と Mib-1 index ≥ 10%(D)の具体例を示す。

使用した。2群間の検定にはカイ二乗検定と Fisher の正確確率検定を、2群間の傾向には Cochran-Armitage 検定を、生存曲線には Kaplan-Meier 法を用い有意差の検定には Log-rank 検定を用いた。

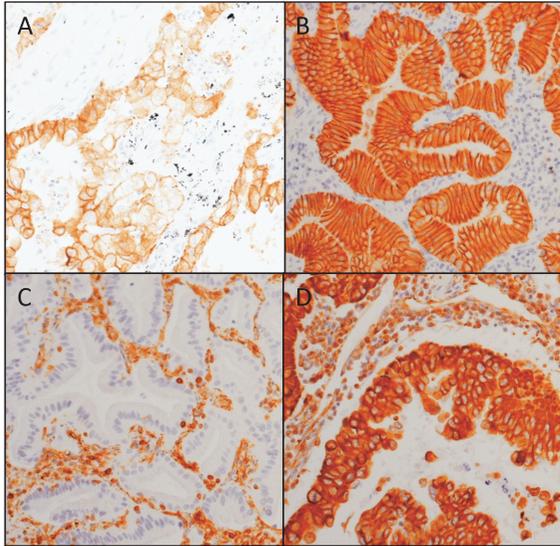


図2 上皮間葉転換マーカーの免疫組織化学染色の例 (200倍)

E-cadherin は膜に染色される。通常染色例(B)と発現低下例(A)の具体例を示す。発現低下例では膜の染色が弱まり、一部途絶していることが確認できる。Vimentin は通常間質が染色される。(C)では間質が染色されているが、腫瘍細胞は陰性である。(D)では間質とともに腫瘍細胞も染色されている。

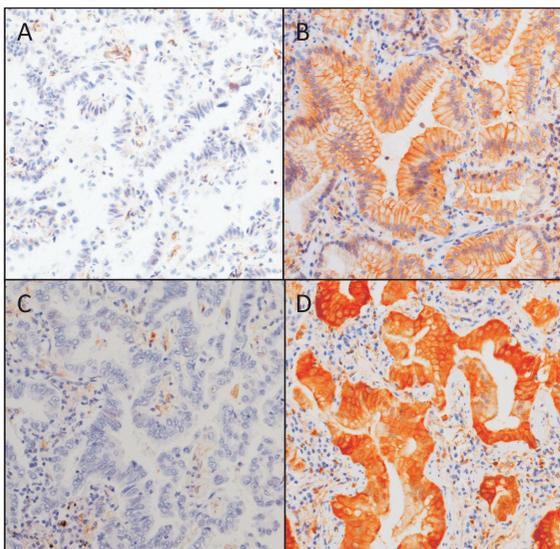


図3 癌幹細胞マーカーの免疫組織化学染色の例 (200倍)

P-glycoprotein は膜に染色される。陰性例(A)と陽性例(B)の具体例を示す。ALDH1A1 は細胞質に染色される。陰性例(C)と陽性例(D)の具体例を示す。

単変量および多変量解析には Cox 回帰分析を用いた。

5. 研究計画の立案

本研究の方法は、平成25年4月8日に近畿大学医学部倫理委員会の承認を得た。本研究の計画に関しては、平成25年7月17日よりホームページ上に公開した (<http://www.kindai-geka.jp/biomarker/2013/07/post-2.html>)。また、本研究は、ヘルシンキ宣言を遵守して施行した。

結 果

1. 各組織型の割合

本研究の全161名のうち、浸潤部分が5 mm 以下かつ腫瘍径が3 cm 以下の minimally invasive adenocarcinoma は1名(0.6%)のみであった。Pre-invasive lesion を除く160名のうち、9名(5.6%)が invasive mucinous adenocarcinoma と診断された。残り151名を既報を参考に Grade 別に分類⁴すると、low grade: 129名, high grade: 22名であった(表1)。Minimally invasive adenocarcinoma は以下の検討から除外した。

2. Invasive adenocarcinoma と invasive mucinous adenocarcinoma の比較

過去の文献でも、invasive adenocarcinoma と invasive mucinous adenocarcinoma とはその分子病理学的特徴が異なる事が報告されている^{26,27}。

表2のごとく両者の臨床的背景には有意差を認めなかったが、各種タンパク発現は両者で大きく異なっていた。TTF-1 に関しては invasive adenocarcinoma の91%で陽性だったが、invasive mucinous adenocarcinoma では1名を除き陰性であった(p<

表1 IASLC/ATS/ERS^{*1} 分類とその頻度

IASLC/ATS/ERS 分類による亜型	患者数 (%)
Pre-invasive lesion	
Minimally invasive adenocarcinoma	1 (0.6%)
Invasive adenocarcinoma	
Low grade	
Lepidic predominant	3 (1.9%)
Papillary predominant	58 (36.0%)
Acinar predominant	68 (42.2%)
High grade	
Micropapillary predominant	1 (0.6%)
Solid predominant	21 (13.0%)
Other variants	
Invasive mucinous adenocarcinoma	9 (5.6%)
Total	161 (100%)

*1 International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society

表2 IASLC/ATS/ERS*1分類と臨床的因子の関連

臨床因子	IMA*2 (n=9)	IA*3 (n=151)	P値	IA*3		P値
				Low grade (n=129)	High grade (n=22)	
性別						
女性	5(56%)	82(54%)	1.0	73(57%)	9(41%)	0.17
男性	4(44%)	69(46%)		56(43%)	13(59%)	
年齢						
<69	4(44%)	77(51%)	0.74	59(46%)	18(82%)	0.0012
≥69	5(56%)	74(49%)		70(54%)	4(18%)	
喫煙歴*4						
あり	2(25%)	76(54%)	0.15	60(50%)	16(76%)	0.022
なし	6(75%)	65(46%)		60(50%)	5(24%)	
CEA*5						
<5.0 ng/ml	7(88%)	95(64%)	0.26	86(68%)	9(41%)	0.016
≥5.0 ng/ml	1(12%)	53(36%)		40(32%)	13(59%)	
病理病期						
I	5(56%)	105(70%)	0.88	98(76%)	7(32%)	0.0002
II	4(44%)	21(14%)		16(12%)	5(23%)	
III	0(0%)	23(15%)		13(10%)	10(45%)	
IV	0(0%)	2(1%)		2(2%)	0(0%)	

* 1 International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society

* 2 Invasive mucinous adenocarcinoma

* 3 Invasive adenocarcinoma

* 4 Invasive mucinous adenocarcinoma の1名, Invasive adenocarcinoma の10名で喫煙歴不明

* 5 Invasive mucinous adenocarcinoma の1名, Invasive adenocarcinoma の3名でCEA測定なし

0.0001). EMT マーカーに関しては, invasive mucinous adenocarcinoma は1例を除き全例で E-cadherin 陽性, 全例で vimentin 陰性であり, 上皮間葉転換は起きていないことが明らかとなった. 一方 CSC マーカーに関しては, invasive mucinous adenocarcinoma の全例が P-glycoprotein ($p=0.0031$) および ALDH1A1 ($p=0.012$) 陽性となり, invasive adenocarcinoma と比較してその差は有意であった(表3).

3. 優勢組織型と臨床病理学的因子の関連

次に, 各優勢組織型と臨床病理学的因子との関連を比較した(表2). Minimally invasive adenocarcinoma 1名と invasive mucinous adenocarcinoma 9名を除いた151名で検討した. Low grade は lepidic/ papillary/ acinar predominant で129名, high grade は solid/ micropapillary predominant で22名であった.

High grade の肺腺癌を有する患者の特徴は, 男性の割合が59% (low grade: 43%) と高い傾向にあり, 罹患年齢は有意に若く ($p=0.0012$), 喫煙者の割合は76% (low grade: 50%) と有意に高かった ($p=0.022$). また病理病期別に比較すると, High grade の肺腺癌では, 進行例の割合が有意に多かつ

た($trend\ p=0.0002$). また, 血清 CEA 値の異常高値例 ($\geq 5\text{ ng/ml}$) の割合も, high grade の肺腺癌では59%であり, low grade の肺腺癌の32%と比して有意に多かった ($p=0.016$).

4. 優勢組織型と分子マーカーの関連

続いて, 各優勢組織型と分子マーカーとの関連を検討した(表3). Mib-1 index の高値例は, high grade では77%, low grade では43%であり, high grade で有意に高値例が多かった ($p=0.0022$). TTF-1 発現に関しては, low grade での TTF-1 発現率は94%, high grade では77%であり TTF-1 陰性例の割合が有意に高かった ($p=0.025$). また, EMT マーカーである E-cadherin の発現に関しては, low grade での E-cadherin 発現率は74%, high grade では45%であり, high grade では有意に E-cadherin の発現率が低かった ($p=0.0084$). また同様に EMT マーカーである vimentin の発現に関しても, low grade での vimentin 発現率は44%, high grade での vimentin 発現率は68%であり, これも high grade で発現率が有意に高かった ($p=0.036$). さらに CSC マーカーである ALDH1A1 には両者で有意差を認めなかったが, P-glycoprotein においては low grade の発現率が43%, high grade の発現率

表3 IASLC/ATS/ERS*1 分類と免疫組織化学染色の関連

免疫組織 化学染色	IMA*2 (n=9)	IA*3 (n=151)	p 値	IA*3		p 値
				Low grade (n=129)	High grade (n=22)	
TTF-1						
negative	8(89%)	13(9%)	<0.0001	8(6%)	5(23%)	0.025
positive	1(11%)	138(91%)		121(94%)	17(77%)	
Mib-1						
<10%	6(67%)	79(52%)	0.50	74(57%)	5(23%)	0.0022
≥10%	3(33%)	72(48%)		55(43%)	17(77%)	
Vimentin						
negative	9(100%)	79(52%)	0.0044	72(56%)	7(32%)	0.036
positive	0(0%)	72(48%)		57(44%)	15(68%)	
E-cadherin						
down	1(11%)	45(30%)	0.45	33(26%)	12(55%)	0.0084
normal	8(89%)	106(70%)		96(74%)	10(45%)	
P-glycoprotein						
negative	0(0%)	79(52%)	0.0031	73(57%)	6(27%)	0.010
positive	9(100%)	72(48%)		56(43%)	16(73%)	
ALDH1A1						
negative	0(0%)	63(42%)	0.012	52(40%)	11(50%)	0.40
positive	9(100%)	88(58%)		77(60%)	11(50%)	

* 1 International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society

* 2 Invasive mucinous adenocarcinoma

* 3 Invasive adenocarcinoma

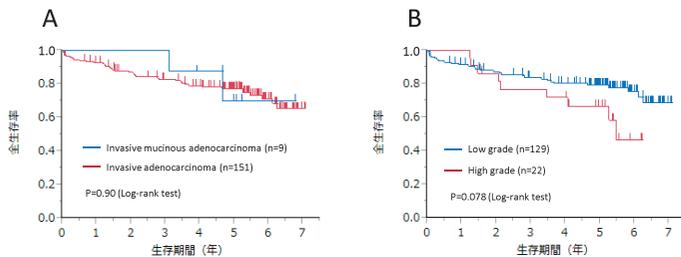


図4 組織型・優勢組織型 Grade 分類別の予後曲線
Invasive adenocarcinoma と Invasive mucinous adenocarcinoma の比較(A), 優勢組織型 Grade 分類別の比較(B)を示す。

表4 臨床因子・病理病期で補正した Grade 分類の予後因子としての役割

因子		単変量		多変量		p 値
		HR*1	(95% CI*2)	HR*1	(95% CI*2)	
性別	男性/女性	1.4	(0.76-2.8)	1.5	(0.65-3.6)	0.33
年齢	≥69/<69	1.6	(0.86-3.2)	1.8	(0.87-3.8)	0.11
喫煙歴	あり/なし	0.95	(0.50-1.8)	1.5	(0.62-3.8)	0.36
CEA	≥5.0/<5.0	1.5	(0.77-2.9)	1.3	(0.64-2.6)	0.47
病理病期	II-IV/ I	2.5	(1.3-4.7)	2.4	(1.2-5.1)	0.019
Grade 分類	High/Low	1.9	(0.86-4.0)	1.7	(0.68-3.9)	0.25

* 1 Hazard Ratio

* 2 Confidence Interval

が73%と、high grade で発現率が有意に高かった (p=0.010)。

5. 優勢組織型の予後因子としての役割

組織型および優勢組織型 Grade 分類の予後因子

としての役割を検討した。まず invasive adenocarcinoma 151名と invasive mucinous adenocarcinoma 9名においては、5年生存率が前者77%、後者70%であり有意差を認めなかった(図4 A)。一方、

invasive adenocarcinoma の low grade および high grade 症例の 5 年生存率はそれぞれ 79% および 67% であり, high grade 症例の予後は不良な傾向にあった ($p=0.078$) (図 4 B). 臨床背景 (性別・年齢・喫煙・CEA 値・病理病期) を加えた多変量解析において, 優勢組織型 Grade 分類は有意ではなかった ($p=0.25$) (表 4).

考 察

2011年に IASLC/ATS/ERS 分類が発表されて以降, 自施設での肺腺癌切除例を再分類して解析した報告が相次いでいる^{4,7,28,29}. 各優勢組織型の割合は国別, 施設別に多少のばらつきがある. 本コホートもこれらの既報と同程度の各優勢組織型の割合であったが, 前浸潤病変の割合が少なく, invasive mucinous adenocarcinoma の割合がやや多かった. 前浸潤病変の割合が少なかった理由は, 本研究では組織マイクロアレイとするには小さい腫瘍径のものが除かれたためと考えられる. 一方, invasive mucinous adenocarcinoma の割合が多かった原因は不明であるが, 南大阪という地域的な背景がある可能性が考えられた.

Invasive mucinous adenocarcinoma は, 通常の invasive adenocarcinoma とは異なる分子生物学的背景を有することが知られている²⁶. 肺腺癌の lineage-survival oncogene とされている TTF-1 陰性例が多く, 本コホートでも 8/9 名 (89%) で TTF-1 陰性であった. さらに, 本研究では癌幹細胞関連マーカーである ALDH1A1 および P-glycoprotein が invasive mucinous adenocarcinoma 全例で陽性となることを見出した. Invasive mucinous adenocarcinoma は, 臨床的には抗がん薬が効きにくい肺癌として知られており, 薬剤排出ポンプである P-glycoprotein を含むこれらの癌幹細胞関連マーカーの発現がこのような抗がん薬抵抗性に関わっている可能性がある. しかし, 本研究では invasive mucinous adenocarcinoma は 9 名のみであったため, 今後, 症例を増やして, これらの結果の妥当性を検証する予定である.

本研究では Grade 分類での high grade 群 (solid および micropapillary predominant) は単変量解析では予後不良な傾向であったが, 多変量解析では有意な予後因子ではなかった. 本研究において単変量解析でも有意差がつかなかった理由としては, high grade が 22 名と少なかった事が関与している可能性がある. 既報では, 179 名を解析した Woo らの検討および 904 名を解析した Tsuta らの検討において, 同様に high grade 症例は単変量では有意な予後不

良因子であるも, 臨床背景などで補正した多変量解析では, low grade 症例と比較してその予後に有意差は無かったことが報告されている^{28,29}. 一方 514 名を解析した Yoshizawa らと 486 名を解析した Yanagawa らの検討においては, 単変量および多変量解析ともに high grade 症例が有意に予後不良であったと報告されている^{4,7}. ちなみに Woo らと Yoshizawa らは pathological stage I に限った検討であり, Tsuta らと Yanagawa らの検討は全 stage でのものである. 本研究も含めて考察すると, IASLC/ATS/ERS 分類の high grade は病理学的な進行と関わっているものの, 病理病期などの臨床因子で補正しても予後不良因子となるかについては, まだ議論の余地があるものと考えられる.

一方, 本研究では high grade 症例 (主に solid predominant 症例) の分子生物学的特徴が明らかとなった. 具体的には low grade 症例と比較して, 上皮間葉転換マーカーおよび癌幹細胞関連マーカーが有意に高発現していた. 我々が PubMed で検索し得た限りでは, high grade 症例とこれらの分子マーカーとの関連を見た報告は 2013 年の Shimada らの 103 名の検討のみである. それによると, ALDH1A1 の発現率は papillary predominant で高く solid predominant で低いとの結果であった. ALDH1A1 は本研究でも検討し, その発現率は low grade で 60%, high grade で 50% であった ($p=0.40$).

本研究では, 病理学的な組織所見とこれまでに報告されている予後因子との関連を同定した. 優勢組織型の Grade 分類は肺腺癌の生物学的悪性度を反映しているが, この背景にこれらの分子異常が関わっていると考えられる.

謝 辞

稿を終えるにあたり, 病理学のご指導と組織マイクロアレイの作成に多大なご助力を頂きました兵庫医科大学病理学分子病理部門の清水重喜先生, ならびに近畿大学医学部外科学教室の実験助手の皆様に深く感謝申し上げます.

文 献

1. Suda K, Tomizawa K, Yatabe Y, Mitsudomi T (2011) Lung cancers unrelated to smoking: characterized by single oncogene addiction? *International Journal of Clinical Oncology* 16(4): 294-305
2. Motoi N, et al. (2008) Lung adenocarcinoma: modification of the 2004 WHO mixed subtype to include the major histologic subtype suggests correlations between papillary and micropapillary adenocarcinoma subtypes, EGFR mutations and gene expression analysis. *The American Journal of Surgical Pathology* 32(6): 810-827
3. Travis WD, et al. (2011) International association for

- the study of lung cancer/american thoracic society/european respiratory society international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma. *Journal of Thoracic Oncology* 6(2) : 244-285
4. Yoshizawa A, et al. (2011) Impact of proposed IASLC/ATS/ERS classification of lung adenocarcinoma : prognostic subgroups and implications for further revision of staging based on analysis of 514 stage I cases. *Modern Pathology* 24(5) : 653-664
 5. Russell PA, et al. (2011) Does lung adenocarcinoma subtype predict patient survival? : A clinicopathologic study based on the new International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society international multidisciplinary lung adenocarcinoma classification. *Journal of Thoracic Oncology* 6(9) : 1496-1504
 6. Van Schil PE, et al. (2012) Surgical implications of the new IASLC/ATS/ERS adenocarcinoma classification. *The European Respiratory Journal* 39(2) : 478-486
 7. Yanagawa N, et al. (2014) The correlation of the International Association for the Study of Lung Cancer (IASLC)/American Thoracic Society (ATS)/European Respiratory Society (ERS) classification with prognosis and EGFR mutation in lung adenocarcinoma. *The Annals of Thoracic Surgery* 98(2) : 453-458
 8. Sica G, et al. (2010) A grading system of lung adenocarcinomas based on histologic pattern is predictive of disease recurrence in stage I tumors. *The American Journal of Surgical Pathology* 34(8) : 1155-1162
 9. Puglisi F, et al. (1999) Prognostic value of thyroid transcription factor-1 in primary, resected, non-small cell lung carcinoma. *Modern Pathology* 12(3) : 318-324
 10. Haque AK, et al. (2002) Immunohistochemical study of thyroid transcription factor-1 and HER2/neu in non-small cell lung cancer : strong thyroid transcription factor-1 expression predicts better survival. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology* 10(2) : 103-109
 11. Berghmans T, et al. (2006) Prognostic role of thyroid transcription factor-1 in stage III non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 52(2) : 219-224
 12. Berghmans T, et al. (2006) Thyroid transcription factor 1-a new prognostic factor in lung cancer : a meta-analysis. *Annals of Oncology* 17(11) : 1673-1676
 13. Kadota K, et al. (2013) Thyroid transcription factor-1 expression is an independent predictor of recurrence and correlates with the IASLC/ATS/ERS histologic classification in patients with stage I lung adenocarcinoma. *Cancer* 119(5) : 931-938
 14. Simony J, et al. (1990) In situ evaluation of growth fraction determined by monoclonal antibody Ki-67 and ploidy in surgically resected non-small cell lung cancers. *Cancer Research* 50(14) : 4382-4387
 15. Scagliotti GV, et al. (1993) Prognostic significance of Ki67 labelling in resected non small cell lung cancer. *European Journal of Cancer* 29A(3) : 363-365
 16. Pence JC, Kerns BJ, Dodge RK, Iglehart JD (1993) Prognostic significance of the proliferation index in surgically resected non-small-cell lung cancer. *Archives of Surgery* 128(12) : 1382-1390
 17. Mehdi SA, et al. (1998) Prognostic significance of Ki-67 immunostaining and symptoms in resected stage I and II non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 20(2) : 99-108
 18. Martin B, et al. (2004) Ki-67 expression and patients survival in lung cancer : systematic review of the literature with meta-analysis. *British Journal of Cancer* 91(12) : 2018-2025
 19. Tabata K, et al. (2014) Ki-67 is a strong prognostic marker of non-small cell lung cancer when tissue heterogeneity is considered. *BMC Clinical Pathology* 14 : 23
 20. Warth A, et al. (2014) Tumour cell proliferation (Ki-67) in non-small cell lung cancer : a critical reappraisal of its prognostic role. *British Journal of Cancer* 111(6) : 1222-1229
 21. Soltermann A, et al. (2008) Prognostic significance of epithelial-mesenchymal and mesenchymal-epithelial transition protein expression in non-small cell lung cancer. *Clinical Cancer Research* 14(22) : 7430-7437
 22. Byers LA, et al. (2013) An epithelial-mesenchymal transition gene signature predicts resistance to EGFR and PI3K inhibitors and identifies Axl as a therapeutic target for overcoming EGFR inhibitor resistance. *Clinical Cancer Research* 19(1) : 279-290
 23. Li F, Zeng H, Ying K (2011) The combination of stem cell markers CD133 and ABCG2 predicts relapse in stage I non-small cell lung carcinomas. *Medical Oncology* 28(4) : 1458-1462
 24. Shien K, et al. (2012) Prognostic impact of cancer stem cell-related markers in non-small cell lung cancer patients treated with induction chemoradiotherapy. *Lung Cancer* 77(1) : 162-167
 25. Moch H, Kononen T, Kallioniemi OP, Sauter G (2001) Tissue microarrays : what will they bring to molecular and anatomic pathology? *Advances in Anatomic Pathology* 8(1) : 14-20
 26. Yousem SA, Beasley MB (2007) Bronchioloalveolar carcinoma : a review of current concepts and evolving issues. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 131(7) : 1027-1032
 27. Casali C, et al. (2010) A single institution-based retrospective study of surgically treated bronchioloalveolar adenocarcinoma of the lung : clinicopathologic analysis, molecular features, and possible pitfalls in routine practice. *Journal of Thoracic Oncology* 5(6) : 830-836
 28. Woo T, et al. (2012) Prognostic value of the IASLC/ATS/ERS classification of lung adenocarcinoma in stage I disease of Japanese cases. *Pathology International* 62(12) : 785-791
 29. Tsuta K, et al. (2013) The utility of the proposed IASLC/ATS/ERS lung adenocarcinoma subtypes for

disease prognosis and correlation of driver gene altera-

tions. *Lung Cancer* 81(3) : 371-376