

15 - 15 神経内分泌学的特性を有する肺がんの病態の把握及び治療法に関する研究

主任研究者 国立がんセンター東病院 永井 完治

研究成果の要旨

肺の大細胞神経内分泌癌(LCNEC)は放射線および化学療法の感受性が明らかになっていない。そこで、放射線感受性および化学療法の効果をアンケートにより調査した。放射線治療の奏効率は57%、化学療法の奏効率は64%であった。臨床的治療効果が認められなかったPD症例はすべて早期に死亡した。LCNECに対する化学療法の有効性及び安全性を検討するためにprospective studyを計画した。対象は術後再発症例あるいは生検でLCNECと診断された手術不能例とした。化学療法はCDDP、イリノテカンを2コース以上4コースまでとした。倫理審査委員会の承認を得てprotocolをスタートした。肺小細胞がんに対する術後化学療法の第Ⅲ相試験(JCOG9101)に登録されたSCLC切除例の病理標本を6人の病理医が見直し、新しい組織分類に従って病理診断を行った。その結果、SCLCと診断された症例は61%、LCNECに変更された症例が27%、非神経内分泌がん10%、High Grade neuroendocrine Carcinomaが2%であった。6人の完全一致率は29%、6人中4人以上の多数一致率は90%であった。過去のSCLCの症例にはLCNEC症例がかなり含まれていると考えられた。

研究者名および所属施設

研究者名	所属施設および職名	分担研究課題
永井 完治	国立がんセンター東病院 医長	神経内分泌学的特性をもった肺がんの手術適応と化学療法
渡辺 俊一	国立がんセンター中央病院 医員	神経内分泌学的特性を持った非小細胞肺がんの手術成績と予後の特徴
亀谷 徹	静岡県立静岡がんセンター 病理診断部長	大細胞神経内分泌がんの病理診断
中川 健	癌研究会附属病院 副院長	神経内分泌学的特性をもった肺がんの臨床病理学的な特性
多田 弘人	大阪市立総合医療センター 呼吸器外科部長	神経内分泌学的な特性を持つ肺がんの外科的治療と補助療法
野田 和正	神奈川県立がんセンター 呼吸器内科部長	神経内分泌学的特性を持った肺がんの化学療法
畝川 芳彦	独立行政法人国立病院機構四国がんセンター 呼吸器科医長	神経内分泌学的特性を有する肺がんと治療効果の関連性に関する研究
中原 理恵	栃木県立がんセンター 呼吸器外科医長	神経内分泌学的特性を有する肺腫瘍の臨床病理学的特性に関する研究
岡田 守人	兵庫県立成人病センター 呼吸器外科医長	神経内分泌学的特性を持つ大細胞肺がんに対する外科的治療の適応とその予後

総括研究報告

1 研究目的

肺の神経内分泌癌は定型カルチノイド(TC)、非定型カルチノイド(ATC)、大細胞神経内分泌癌(LCNEC)、小細胞癌(SCLC)の4つに分類される。TC,ATC,SCLCについては臨床的特徴および治療法については明らかになっている部分が多い。しかし、1999年のWHO分類により新しく加わったLCNECの臨床的特徴は明らかでなく、標準的治療は設定されていない。この班では、LCNECの臨床的および病理学的特徴を明らかにするとともに、標準的治療を設定することを目的とした。また、他の3つの神経内分泌癌についてもしばしば病理診断の困難な場合があり、それらの正確な診断を行うための指針を出し、治療に関しても、現在の標準治療よりもさらに有効な治療法の開発を行うことを目的とした。

2 研究成果

本年度の成果は、下記のごとくであった。

大細胞神経内分泌がん(LCNEC)の放射線感受性および化学療法の効果をアンケートにより調査した。アンケートは切除標本でLCNECと診断された症例のうち切除後再発症例に対する放射線または化学療法を施行した症例を対象とした。再発臓器は脳が最も多く7例、縦隔リンパ節5、肺5、肝5、骨4、頸部リンパ節3、胸壁1、胸膜播種1、副腎1であった。化学療法はCDDPまたはCBDCAを用いた2剤併用療法が多く、CDDPまたはCBDCAを用いない化学療法は効果がなかった。化学療法全体の奏効率は64%であった。放射線治療は脳、骨、リンパ節転移に行われ、奏効率は57%であった。臨床的治療効果が認められなかったPD症例はすべて早期に死亡した。

LCNECに対する化学療法の有効性および安全性を検討するためにprospective studyを計画した。対象は術後再発症例あるいは生検でLCNECと診断された手術不能例とした。化学療法に使用した薬剤はCDDP(60mg/m², day1)、イリノテカン(60mg/m², day1, 8, 15)を2コース以上最大4コースまでとした。倫理審査委員会の承認を得てprotocolをスタートした。

LCNECおよび小細胞肺がん(SCLC)の免疫組織学的特性、組織学的鑑別のためにサイトケラチン、カテニン、Eカドヘリン等の細胞接着因子、CD15, CD30について免疫染色を行った。CK7はLCNECで強陽性で、染色性でSCLCと明らかに異なっていた。LCNEC39例SCLC11例に免疫染色を行った結果、CK7, CK18, カテニン、Eカドヘ

リンの4つで、2つの組織型の間には明らかな染色性の相違(LCNEC>SCLC)が認められた。

III例の肺神経内分泌腫瘍〔定型的カルチノイド(TC)13、非定型カルチノイド(AC)5、LCNEC44、SCLC49〕について、細胞回転関連たんぱくcyclin B1の過剰発現とRb/p16/cyclin D1経路の破綻の存在の有無をしらべた結果、これらと腫瘍の増殖能(Ki67-MIBI標識率によって評価)及び患者予後との間に相関が得られた。cyclin B1の高度の過剰発現をLCNEC, SCLCそれぞれの84%に認めた。Rb/p16/cyclin D1経路の破綻をLCNECの78%、SCLCの93%に認めた。SCLC細胞株N231とLCNEC細胞株LC-N1をアガロース2次電気泳動及び質量分析法(LC-MS/MS)を用いて、両細胞株において発現の相違がみられるたんぱく中、cytokeratin 7, 8, 18, 19について比較すると、いずれもLCNEC細胞株で高発現をみた。これらのcytokeratinに対する抗体を用いて、SCLC27例、LCNEC30例の切除標本を免疫染色したところ、4つのcytokeratinとも、LCNECの方が発現スコアが高かった。

高悪性度NE腫瘍(LCNEC+SCLC)のゲノム量と臨床病理事項との関係と非SCLCにおける神経内分泌性が腫瘍の生物学的性質に及ぼす影響を検討した。用いた組織は、小細胞癌組織1例、および肺癌細胞株2例(H1395, H2122)であった。ゲノム量解析には、Affymetrix社製のGenotyping Array(10K, 100K)を用いてgenome imbalance map(GIM)を作製し、小細胞癌に応用した。SCLC細胞株H1395では、8番染色体短腕における欠失によるLOHを明瞭に検出したほか、ROH(retention of heterozygosity)には、正常状態の2copy/cell以外にも、3copy/cell, 4copy/cellなど様々な種類のあること、c-mycの増幅のほか、8番染色体長腕に新たな遺伝子増幅を検出した。一方、SCLC組織を用いた検索では、アレル量は階段状になっており、LOHとして検出されていても、実は完全な欠失ではなく、欠失のあと残ったアレルが2倍化して、アレル量としては減っていない部分の多いことが判明した。これは、相同組みかえによりアレル量が保持されていることを意味している。神経内分泌性腫瘍のゲノム量解析では、SCLCでは全ゲノムにわたりLOHが多いが、その多くではゲノム量は減少せず、一方のアレルが2倍化していることが判明した。また、ROHの状態のものでも、アレル量の増加が頻繁に見られた。これらの変化は、SCLCの発生過程を反映しており、今後は非SCLC、LCNECと比較により、神経内分泌性腫瘍の発生過程を明らかにしてゆく予定である。

外科的切除を行った末梢発生小細胞癌15例、ならびに

肺門型小細胞癌 15 例のホルマリン固定パラフィン切片を用いて、p 53, bcl-2 ならびに ssDNA(アポトーシスを示す細胞に発現する 1 本鎖 DNA に対する抗体)の免疫組織学的検討を行った。また増殖周期にある細胞核を認識する Ki-67(MIB-1)の陽性率についても比較検討した。P 53, bcl-2 の発現率については、末梢型小細胞癌と肺門型小細胞癌との間で有意差は認めなかったが、ssDNA については、末梢型小細胞癌では肺門型小細胞癌に比較して有意に陽性が多かった。Ki-67 の陽性率については、末梢型小細胞癌ではその平均値は 28.7 ± 12.3 であるのに対して、肺門型では 80.3 ± 13.2 を示し、有意差を認めた。

肺小細胞がんに対する術後化学療法の第 相試験 (JCOG9101)に登録された SCLC 切除例の病理標本を 6 人の病理医が見直し、新しい組織分類に従って病理診断を行った。その結果、SCLC と診断された症例は 61%、LCNEC に変更された症例が 27%、非神経内分泌がん 10%、High Grade Neuroendocrine carcinoma 2%であった。6 人の完全一致率は 29%であったが、6 人中 4 人以上の多数一致率は 90%であった(表-1)。このように過去の小細胞がん症例にはかなりの LCNEC およびその他の組織型が含まれていると考えられた。

表-1

JCOG9101 病理中央診断

中央診断	症例数	%
NE tumor	46	90
SCLC	31	61
LCNEC	14	27
High-grade NE ca.	1	2
Non-NE tumor	5	10
LCC	3	6
SQ	1	2
完全一致率	15/51	29
多数一致率(4/6以上)	46+/51	90

3 倫理面への配慮

倫理面への配慮については、過去の症例のレトロスペクティブな検討においては、氏名や個人情報を守秘されるように最大限の努力を払うこととした。本研究に関する研究者はヘルシンキ宣言に従って研究を行うこととした。

研究成果の刊行発表

外国語論文

1. Yonou, H., Nagai, K., et al., Topographical Distribution of Allelic Loss in Individual Lung Adenocarcinomas with Lymphnode Metastases. *Modan Pathology*, 17: 204-213, 2004.
2. Kakinuma, R., Nagai, K., et al., Ground-Glass Opacity Detected by Low-Dose Helical Computed Tomography Screening for Lung Cancer. *J Comput Assist Tomogr.* 28: 17-23, 2004.
3. Shimizu, K., Nagai, K., et al., Visceral Pleural Invasion Classification in Non-Small Cell Lung Cancer: A Proposal on the Basis of Outcome. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 127:1574-1578, 2004.
4. Takamochi, K., Nagai, K., et al., Prognosis and Histologic Features of Small Pulmonary Adenocarcinoma Based on Serum Carcinoembryonic Antigen Level and Computed Tomographic Findings. *Eur. J. Cardio-thoracic Surg.* 25: 877-883, 2004.
5. Igarashi, T., Nagai, K., et al., Divergent Cyclin B1 Expression and Rb/p16/cyclin D1 Pathway Aberrations Among Pulmonary Neuroendocrine Tumors. *Modern Pathology*, 17: 1259-1267, 2004.
6. Tsuta, K., Nagai, K., et al., Primary Lung Carcinoma with Signet-ring Cell Carcinoma Components: Clinicopathological Analysis of 39 Cases. *Am. J. Surg Pathol*, 28: 868-874, 2004.
7. Takamochi, K., Nagai, K., et al., Molecular Analysis of the TSC1 Gene in Adenocarcinoma of the Lung. *Lung Cancer.* 46: 271-281, 2004.
8. Kim Y.H., Nagai, K., et al., Dominant Papillary Subtype Is a Significant Predictor of the Response to Gefitinib in Adenocarcinoma of the Lung. *Clin Cancer Res.* 10:7311-7317, 2004.
10. Kobayashi, Y., Nagai, K., et al., Cytologic Factors Associated with Prognosis in Patients with Peripheral Adenocarcinoma of the Lung Measuring 3 cm or Less in Greatest Dimension. *Cancer Cytopathology.* 105: 45-51, 2004.
11. Watanabe, S., et al., Recent Results of Postoperative Mortality for Surgical Resections in Lung Cancer. *Ann Thorac Surg.* 78: 999-1003, 2004.

12. Jiang, S-X., Kameya, T., et al., hASH1 expression is Closely Correlated with Endocrine Phenotype and Differentiation Extent in Pulmonary Neuroendocrine Tumors. *Mod. Pathol.* 17:222-229, 2004.
13. Igarashi, T., Kameya, T., et al., Divergent cyclin B1 Expression and Rb/p16/Cyclin D1 Pathway Aberrations Among Pulmonary Neuroendocrine Tumors. *Mod. Pathol.* 17:1259-1267, 2004.
14. Jones, MH., Nakagawa, K., et al., Two Prognostically Significant Subtypes of High Grade Lung Neuroendocrine Tumours Independent of Small-Cell and Large-Cell Neuroendocrine Carcinomas Identified by Gene Expression Profiles. *LANCET*, 363: 775-781. 2004.
15. Kobayashi, Y., Nakagawa, K., et al., Molecular Markers for Reinforcement of Histological Subclassification of Neuroendocrine Lung Tumors, *Cancer Sci*, 95; 334-341.2004.
16. Tada, H., Tsuchiya, R. et al. A randomized trial comparing adjuvant Chemotherapy versus Surgery Clone for Completely Resected pN2 Non-Small Cell Lung Cancer (JCOG9304). 2004.
17. Kato, H., Tada, H. et al. A Randomized Trial of Adjuvant Chemotherapy with Uracil-Tegafur for Adenocarcinoma of the Lung. 2004.
18. Yamada, K., Noda, K., et al., Dose escalation Study of paclitaxel in combination with fixed-dose irinotecan in patients with advanced non-small cell lung cancer (JCOG9807). *Oncology* 66:94-100. 2004.
19. Kubota, K., Noda, K., et al., Phase III Randomized Trial of Docetaxel Plus Cisplatin Versus Vindesine Plus Cisplatin in Patients With Stage IV Non-Small-Cell Lung Cancer: The Japanese Taxotere Lung Cancer Study Group. *J Clin Oncol* 22: 254-261. 2004.
20. Okada, M., Nishio, W., et al., Correlation Between Computed Tomographic Findings, Bronchioloalveolar Carcinoma Component and the Biologic Behavior of Small-Sized Lung Adenocarcinomas. *J Thorac Cardiovasc Surg* 127, 857-861, 2004.
21. Okada, M., Nishio, W., et al., Sleeve Segmentectomy for Non-Small Cell Lung carcinoma. *J Thorac Cardiovasc Surg* 128: 420-424, 2004.
22. Okada, M., Nishio, W., et al., Evolution of Surgical Outcomes for Non-Small Cell Lung Cancer: Time Trends in 1465 Consecutive Patients Subjected to a Complete Resection. *Ann Thorac Surg* 77:1926-1930, 2004.
23. Okada, M., Nishio, W., et al., Prognostic Significance of Perioperative Serum Carcinoembryonic Antigen in Non-Small Cell Lung Cancer: Analysis of 1,000 Consecutive Resections for Clinical Stage I Disease. *Ann Thorac Surg* 78, 216-221, 2004.
24. Okada, M., Nishio, W., et al., The Effect of Histologic Type and Smoking Status on the Interpretation of Serum Carcinoembryonic Antigen Value in Non-Small Cell Lung Carcinoma. *Ann Thorac Surg* 78, 1004-1009 2004.
25. Kubota, K., Segawa, Y., et al. Phase III randomized trial of docetaxel plus cisplatin versus vindesine plus cisplatin in patients with stage IV non-small-cell lung cancer: the Japanese taxotere lungcancer study group. *J Clin Oncol*, 22: 254-261, 2004.
26. Takigawa, N., Segawa, Y., et al. Clinical and Pharmacokinetic Study of Docetaxel in Elderly Non-Small-Cell Lung Cancer Patients. *Cancer Chemother Pharmacol* 54: 230-236. 2004.
27. Hiraki, A., Segawa, Y., et al. Hypercalcemia-Leucocytosis Syndrome Associated with Lung Cancer. *Lung Cancer* 43: 301-307. 2004.
28. Nogami, N., Segawa, Y., et al., Phase I study of Docetaxel and Irinotecan in Patients with Advanced Non-Small-Cell lung Cancer. *Lung Cancer*, 45: 85-91, 2004.
29. Kameya, T., et al Chapter 19: Multiple Endocrine Neoplasia. in *Endocrine Pathology; Differential Diagnosis and Molecular Advances*, Lloyd, R.V. (ed.), Humana Press, Totowa