

## 15-15 神経内分泌学的特性をもった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がん（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、切除標本あるいは生検標本により組織学的に LCNEC の確定診断が得られている術後再発あるいは切除不能症例を対象に、prospective study を施行中である。治療はシスプラチン 60mg/m<sup>2</sup>, day1, イリノテカン 60mg/m<sup>2</sup>, day1, 8, 15 を 1 コースとし、PD とならなければ、2 コース以上最大 4 コースまで行うこととした。primary endpoint は奏効率、secondary endpoints は生存期間、無増悪生存期間、有害事象とした。現在までに術後再発 3 例、手術不能 5 例の計 8 例が登録されている。

小細胞がんの術後化学療法のプロトコール(JCOG9101)登録症例の病理標本(51例)を6人の病理医で見直し、新しい肺がん組織分類に従って病理診断を行った。最終病理診断でSCLCと診断された症例は32例、63%、LCNECに変更された症例が15例、29%、非神経内分泌がんが4例、8%であった。6人の病理医の組織型診断の完全一致率は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。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。LCNEC細胞株LCN1を無血清培地で培養し、その培養上清から分泌・放出されたペプチドに対する抗体を作成し、ELISAアッセイ系を確立し、肺神経内分泌腫瘍のバイオマーカーとなりうるか否かを検討中である。

### 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	がん研究会有明病院 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

## 研究報告

## 1 研究目的

肺の神経内分泌がんは定型的カルチノイド(TC)、非定型的カルチノイド(ATC)、大細胞神経内分泌がん(LCNEC)、小細胞がん(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つの神経内分泌がんについてもしばし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

肺原発大細胞神経内分泌がん(LCNEC)に対するシスプラチン+イリノテカン併用療法の第II相試験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。適格規準は、切除標本あるいは生検標本により組織学的に大細胞神経内分泌がんの確定診断が得られている術後再発あるいは切除不能症例、75歳以下の症例、PS 0-1、測定可能病変を有する、他のがん種に対する治療を含めてプラチナ製剤あるいはイリノテカンを含んだ化学療法の既往がない、主要臓器機能が保たれている、患者本人からの文書同意が得られている、投与開始日より3ヶ月以上の生存が期待できる症例とした。治療はシスプラチン 60mg/m<sup>2</sup>, day1, イリノテカン 60mg/m<sup>2</sup>, day1, 8, 15を1コースとし、PDとならなければ、2コース以上最大4コースまで行うこととした。primary endpointは奏効率、secondary endpointsは生存期間、無増悪生存期間、有害事象とした。予定登録数は2年間で44例、追跡期間は、最終症例集積より1年間とした。2004年9月22日国立がんセンターの倫理審査委員会の承認を得てprotocolをスタートした。Studyに参加する各施設では、それぞれの施設の倫理審査委員会の承認を得た上でprotocolをスタートした。現在までに術後再発3例、手術不能5例の計8例が登録されている。

肺の神経内分泌腫瘍の病理中央診断：班研究に参加している各施設において肺原発の神経内分泌腫瘍と診断された外科切除症例合計383例が集積された。383例中16例が病理中央診断によって対象外症例と診断され、1例が登録不適例(剖検例)とされた。残った366例の病理

中央診断の内訳は、定型カルチノイド腫瘍(55例, 15%), 非定型カルチノイド腫瘍(9例, 2.5%), 小細胞がん(104例, 28.4%), 大細胞神経内分泌がん(138例, 37.7%), 高悪性度神経内分泌がん(14例, 3.8%), 大細胞がん(33例, 9%), その他(13例, 3.6%)であった。この結果は2003年度研究報告書に記載した。また、この内容をJournal of Clinical Oncologyに投稿したところ、reviewerの1人に高悪性度神経内分泌がん(14例, 3.8%)をWHOの新しい肺がん組織分類に従って、分類するようにとcommentされた。そのため、高悪性度神経内分泌がん(14例)の病理標本を6人の病理医が再度見直し、中央診断を行った。その結果、9例がSCLC、3例がLCNEC、1例が非神経内分泌がん、1例が判定不能と診断された。この病理診断の再評価に従って予後の解析を行った。肺の神経内分泌がんの組織型別の切除後5年生存率は、全病期では、定型カルチノイド(96.2%), 非定型カルチノイド(77.8%), 小細胞がん(35.7%), 大細胞神経内分泌がん(40.3%)であり、神経内分泌腫瘍のスペクトラムの中での悪性度が明らかとなった。

肺小細胞がん切除症例の病理診断の再評価(表-1): 小細胞がんの術後化学療法のプロトコール(JCOG9101)登録症例の病理標本(51例)を6人の病理医で見直し、新しい肺がん組織分類に従って病理診断を行った。前回、判定不能であった症例についても再度6名で見直しを行い、組織型の診断を決定した。その診断に基づき予後の解析を行なった。最終病理診断でSCLCと診断された症例は32例、63%、LCNECに変更された症例が15例、29%、非神経内分泌がんが4例、8%であった。6人の病理医の組織型診断の完全一致率は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。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。病理診断の変更されたSCLCの5年生存率は58%、LCNECの5年生存率は52%で両者間に有意差はなかった。病理病期別の生存率においても中央診断を行う前と後で相違はなかった。

肺SCLCとLCNECの病理組織学的鑑別診断の指針を作成した(表-2)。SCLCとLCNECの鑑別診断は困難な場合がある。それぞれの典型例には問題はないが、中間的な形態所見を呈する症例もまれではない。表-2に示すように腫瘍の発生部位、胞巣と間質の境界、腫瘍細胞の大きさ、細胞質、核クロマチン、核小体等が鑑別に有用な所見である。

LCNEC細胞株LCN1を無血清培地で培養し、その培養上清から分泌・放出されたペプチドを探索した。逆相カラ

ム RP-HPLCにより分画されたピークの一つの蛋白を MALDI-TOF-MS にかけて分析したところ、23-62 残基アミノ酸から成るペプチドで、我々は仮にこれをペプチド M と名づけた。ペプチドベースデータと照合し、ペプチド M は神経内分泌細胞が産生・分泌するペプチドであることが明らかとなった。ペプチド M に対する抗体を作成し、E LISA アッセイ系を確立し、肺神経内分泌腫瘍のバイオマーカーとなりうるか否かを検討することとした。

1982-1999 年の間に国立がんセンター中央病院で SCLC と病理学的に診断された 55 例のうち、病理の見直しにより 24 例 (44%) が LCNEC へと診断が変更された。旧 WHO 分類での intermediate cell type 21 例中 13 例が LCNEC へと変更され、SCLC の intermediate cell variant と呼ばれていたものの多くが現在 LCNEC に再分類されている (oat cell type では 20 例中変更は 4 例のみ)。最終的に SCLC と診断された 31 例について予後調査を行った。再発を認めた症例が 17 例 (55%) で、うち 11 例が遠隔転移であった。全体の 5 年生存率は LCNEC とほぼ同様であり有意差を認めていない。

リンパ節転移を伴うが、切除可能と考えられる限局性小細胞肺がん症例のうち、放射線化学療法と手術が可能と考えられる良好な臓器機能を有する症例を対象とし、同意の得られた 70 歳以下の症例を無作為に手術群と booster radiation の 2 群に割り付け、その安全性と生存率を評価する study を行った。しかし、症例の集積が不十分で、今年度で症例の集積を中止することとし、年内に中間解析を行うこととした。

#### 4 倫理面への配慮

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。Prospective Study は各施設の倫理審査委員会の承認、患者さんの文書による同意を得て行っている。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。

(表-1) JCOG9101 病理中央診断

中央診断		症例数	%
NETumor		47	92
	SCLC	32	63
	LCNEC	15	29
Non-NETumor		4	8
	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

(表-2) LCNEC と SCLC 病理学的鑑別診断

	LCNEC	SCLC
原発腫瘍部位	末梢 >> 中枢	中枢または末梢
胞巣と間質の境界	明瞭	不明瞭、びまん性
Organoid pattern	よく見られる	しばしば見つけにくい
腫瘍細胞の大きさ	大きい	小さい
核間距離	広い	狭い、overlapping
細胞間結合性	Tight	Loose
細胞挫滅	時に見られる	ほとんど常に見られる
細胞質	豊富なことが多い	僅少
核形	類円形	Fusiform, Oval など
核クロマチン	種々の程度に粗造	繊細
核小体	しばしば大型明瞭	ないか、あっても小型
Wide cytokeratin	陽性	Dot 状陽性、または陰性
Cytokeratin 7	More	Less
E-Cadherin	More	Less

#### 研究成果の刊行発表

##### 外国語論文

1. Takamochi, K., Nagai, K., et, al., Pitfalls in Lymph node staging with positron emission tomograph in non-small cell lung cancer patients. Lung Cancer, 47: 235-242, 2005.

2. Kobayashi, Y., Nagai, K., et, al., Cytologic factors associated with prognosis in patients with peripheral adenocarcinoma of the lung measuring 3cm or less in greatest dimension. *Cancer, Cytopathology*, 105: 44-51, 2005.
3. Yoshida, J., Nagai, K., et, al., Limited resection trial for pulmonary ground-glass opacity nodules: fifty-case experience. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg*, 129: 991-996, 2005.
4. Shimizu, K., Nagai, K., et, al., Extranodal marginal zone B-cell Lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT Lymphoma) in the thymus; Report of Four Cases. *Jpn. J. Clin. Oncol*, 35: 412-416, 2005.
5. Tsuboi, M., Nagai, K., Tada, H., et, al., Haiyi, Jiang., Gefitinib in the adjuvant setting: safety results from a phase III study in patients with completely resected non-small cell lung cancer. *Anti-Cancer Drugs*, 16: 1123-1128, 2005.
6. Shiono, S., Nagai, K., et, al., A resected case of pulmonary large cell neuroendocrine carcinoma showing aggressive progression. *J. J. L. C.*, 45: 751-754, 2005.
7. Tsuta, K., Nagai, K., et, al., Primary lung adenocarcinoma with massive lymphocyte infiltration. *Am. J. Clin. Pathol*, 123: 547-552, 2005.
8. Watanabe, S., et al., Problems in Diagnosis and Surgical Management of Clinical N1 Non-small Cell Lung Cancer. *Ann. Thorac. Surg*, 79: 1682-1685, 2005.
9. Watanabe, S., et al., The new strategy of selective nodal dissection for lung cancer based on segment-specific patterns of nodal spread. *Interactive Cardiovascular and Thorac Surg*. 4: 106-109, 2005.
10. Inamura, K., Nakagawa, K., et, al., Two subclasses of lung squamous cell carcinoma with different gene expression profiles and prognosis identified by hierarchical clustering and non-negative matrix factorization. *Oncogene*, 24: 7105-7113, 2005.
11. Nishio, M., Nakagawa, K., et, al., Phase I study of combination chemotherapy with gemcitabine and irinotecan for non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*, 48: 115-119, 2005.
12. Inamura, K., Nakagawa, K., et, al., Pulmonary adenocarcinomas with enteric differentiation: Histologic and immunohistochemical characteristics compared with metastatic colorectal cancers and usual pulmonary adenocarcinomas. *Am. J. Surg. Pathol*, 29: 660-665, 2005.
13. Nishio, M., Nakagawa, K., et, al., Gefitinib treatment affects androgen levels in non-small-cell lung cancer patients. *British Journal of Cancer*, 92: 1877-1880.
14. Satoh, Y., Nakagawa, K., et, al., Classification of parietal pleural invasion at adhesion sites with surgical specimens and lung cancer and implications for prognosis. *Virchows Arch*, 447: 984-989, 2005.
15. Shimizu K, Noda K, et al. Surgically curable peripheral lung carcinoma. Correlation of thin-section CT findings with histologic prognostic factors and survival. *Chest*, 127(3): 871-878, 2005.
16. Atagi S, Noda K, et al. Standard thoracic radiotherapy with or without concurrent daily low-dose carboplatin in elderly patients with locally advanced non-small cell lung cancer: a phase III trial of the Japan Clinical Oncology Group (JCOG9812). *Jpn. J. Clin. Oncol*, 35(4): 195-201, 2005.
17. Kubota K, Noda K, et al. Pilot study of concurrent etoposide and cisplatin plus accelerated hyperfractionated thoracic radiotherapy followed by irinotecan and cisplatin for limited-stage small cell lung cancer: Japan Clinical Oncology Group 9903. *Clin. Cancer Res*. 11(15): 5634-8, 2005.
18. Oshita F, Noda K, et al. Genomicwide cDNA microassay screening of genes related to benefits and toxicities platinum-based chemotherapy in patients with advanced lung cancer. *Am. J. Clin. Oncol*, 28(4): 367-70, 2005.
19. Sawada, S., Segawa, Y., et al., Advanced age is not correlated with either short-term or

long-term postoperative results in lung cancer patients in good clinical condition.

Chest, 128: 1557-1563, 2005.

20. Hotta, K., Segawa, Y., et al., Phase I study of irinotecan and amrubicin in patients with advanced non-small-cell lung cancer. Anticancer Res, 25: 2429-2434, 2005.
21. Asamura, H., Nagai, K., Kameya, T., Tada, H., Neuroendocrine neoplasms of the lung: A prong Ostic Spectrum. J. Clin. Oncol, 24: 70-76, 2006.
22. Inamura, K., Nakagawa, K., et, al., Loss of Chromosome 13q is Associated with Malignant Potential in Pulmonary Carcinoids. Cancer Genomics & Proteomics, 3: 39-46, 2006.

#### 日本語論文

1. 渡辺 俊一、他 胸腔鏡手術－是か非か？－肺がんに対するVATS lobectomyの現状と問題点－, 日本外科学会雑誌, 106:313-319, 2005.
2. 渡辺 俊一、他 肺がんに対する根治治療 肺葉切除とリンパ節郭清, 日本肺がん学会雑誌, 2006 (in press).
3. 多田弘人、他 非小細胞肺がんに対する術前治療、MOOK 肺がんの臨床 2004-2005, 疫学 発見 診断 治療、215-221、2005.
3. 多田弘人、他 小細胞肺がんの外科的療法 (LD-SCLC の放射線化学療法後の意義を含む)、MOOK 肺がんの臨床 2005-2006、187-192.
5. 多田弘人、他 6. III期非小細胞肺がんの治療 (2) 外科の立場から、コンセンサスがん治療、第4巻 第4号、200-203、2005.
6. 野田和正、他 肺小細胞がんに対する治療法とその選択. 外科治療、93(4): 434-8, 2005.
7. 畝川芳彦、他 本邦における肺がん臨床試験の実際－第III相試験－、2005.