

平成 30 年 6 月 8 日現在

機関番号：16201

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K21201

研究課題名(和文)非小細胞肺癌におけるデジタル画像解析システムを用いた核グレード判定に関する検討

研究課題名(英文)Nuclear grading of non-small cell lung cancer assessed by an image analysis system

研究代表者

門田 球一(Kadota, Kyuichi)

香川大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：70448356

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：進行期非小細胞肺癌においては、小リンパ球を用いた肉眼的解析およびデジタル画像解析のいずれにおいても、大型核を有する癌細胞の存在は、全生存期間の短縮に関連し、さらに大型核の癌細胞は治療開始後の無増悪生存期間の短縮にも相関していた。小リンパ球を用いた肉眼的解析およびデジタル画像解析で計測された癌細胞核の計測値は、統計学的に相関していた。

研究成果の概要(英文)：Our comprehensive evaluation of cytological nuclear morphometry suggests that nuclear size is an important prognostic marker in patients with advanced unresectable NSCLC.

研究分野：肺癌

キーワード：肺癌 病理

1. 研究開始当初の背景

研究の学術的背景

非小細胞肺癌は癌関連死の中で主要な要因の一つであり、進行期非切除例はもとより、早期切除例にも非常に予後不良なグループが含まれている。近年、化学療法や分子標的療法による個別化療法の観点から、非小細胞肺癌は組織型として腺癌と扁平上皮癌へ正確に分類されなくてはならない。2011年の肺腺癌国際分類の改定以降 (Travis et al. J Thorac Oncol 2011)、組織亜型分類が予後と関連することが解明されてきた。癌細胞の核グレードは予後や治療効果に相関する因子として、乳癌や腎癌における日常病理診断で判定が行われているが、肺癌における核グレードの臨床的有用性はまだ十分に解明されていない。

申請者らはこれまでに、早期非小細胞肺癌の切除症例の核グレードと組織パターンの臨床的有用性および分子マーカーとの関連性を組織型別 (腺癌と扁平上皮癌) に研究し、以下の研究成果を報告してきた。

- 1) 癌細胞の核グレード (核分裂像と核径) と増殖能 (Ki-67 標識率) は、肺腺癌患者における重要な予後因子である (Kadota et al. Mod Pathol 2012)。
- 2) 癌細胞の核グレード (核径) と微小胞巣性増殖パターンは、肺扁平上皮癌患者における独立した予後因子である (Kadota et al. J Thorac Oncol 2014)。
- 3) 肺腺癌に特異的なマーカーである TTF-1 が陰性となる肺腺癌症例は非常に予後不良で、高グレードな組織パターンと関連していた (Kadota et al. Cancer 2013)。
- 4) 癌細胞の篩状パターンは肺腺癌患者における独立した予後不良因子であり、核グレードと相関している (Kadota et al. Mod Pathol 2014)。

これらの研究では核グレード (特に核径) が、腺癌と扁平上皮癌の早期切除症例における重要な患者予後予測因子であることが共通していた。しかし、切除標本から得られたこれらの結果の、進行期非切除例から採取された生検標本での再現性に関しては検討されていない。また、核グレードの評価法に関しては主観的な割合が高く、診断者間の再現性 (不一致) が問題となるため、臨床的に再現性の高い評価方法を確立する必要がある。

2. 研究の目的

申請者らは癌細胞の核グレードと組織パターンを、早期非小細胞肺癌の切除症例における予後因子として多数報告してきた。しかし、これらの病理形態学的因子の判定では、診断者間の再現性が問題となる。さらに、進行期

非切除例での核グレードの臨床的有用性は、十分に検討されていない。そこで本研究は、非小細胞肺癌の核グレードの 1) 早期切除例における臨床的有用性の解明、2) デジタル画像解析システムを用いた再現性の解析、3) 進行期非切除例における臨床的有用性を明らかにすることを目的としており、得られる成果は患者予後予測因子として、再現性に優れた肺癌核グレード判定法の確立に大きく貢献する。

3. 研究の方法

臨床・病理データファイルの確立

当研究施設では平成 20 年～平成 24 年の間に治療された約 1000 例の肺癌症例 (約 800 人の切除例と約 200 人の非切除例) の基本的な臨床データを所有している。まずは、患者の最終経過観察日と患者転帰 (生存と癌再発の有無) を再確認し、データファイルの更新を行う。さらに、診療録から抽出可能な病理学的因子 (組織型、病理病期、癌の大きさや個数、EGFR や ALK 遺伝変異の有無) をデータに追加する。

切除肺癌組織標本の収集と顕微鏡を用いた病理学的評価
切除肺癌症例から癌組織の HE 染色標本を収集し、顕微鏡下に以下の病理学的因子を評価する。

- ・核グレード：核径計測 (Kadota et al. Mod Pathol 2012, J Thorac Oncol 2014)
- ・組織亜型：2015 年版肺癌 WHO 分類

デジタル解析システムによる核グレードの評価

・市販されているデジタル画像解析システム (WinROOF Ver6, Mitani Corporation) を用いて、核径 (長径と短径) や核面積、核/細胞質比などを評価する。実際の計測方法については、それぞれの解析ソフトの利用方法手順を参考にする。

医療用統計ソフトを利用し、早期切除例での核グレードの臨床病理学的な有用性を解析

市販の医療用統計ソフト (SPSS Statistics Ver23, IBM) を用いて、核グレードと患者予後 (生存や再発) 他、病理学的予後因子、分子マーカーの発現との関連性を解析する。また、肺腺癌あるいは扁平上皮癌のみのグループで個別に解析し、核グレードの有用性について組織型別の評価を行う。核グレードが単変量解析で予後因子の場合には、多変量解析にてそれが独立した因子である可能性を検討する。さらに、顕微鏡下と 2 種類のデジタル解析システムの間での、核グレード判定結果をそれぞれ比較検討し、核グレードの再現性を評価する。

4. 研究成果

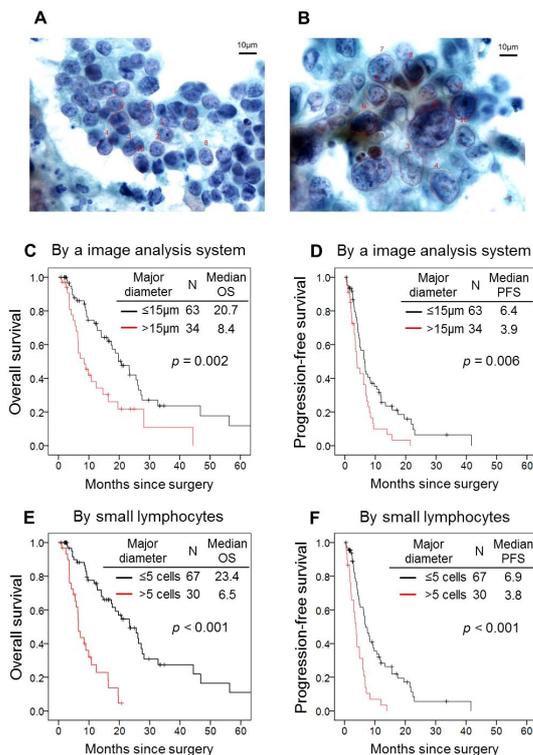
大型核を有する癌細胞と患者予後との関連性に関して (Figure 1)

当院で2007年1月から2015年6月の間に、気管支擦過細胞診で非小細胞肺癌と診断され、治療が行われた進行期非切除症例 97 例を対象とした。パパニコロウ染色標本を用いて、強拡大視野 (対物 40 倍) で小リンパ球を指標にして癌細胞の核径を計測した。100 個の癌細胞を判定し、小リンパ球径の 5 倍以上の核径を有する癌細胞が優位である場合に大型核として分類した (Kadota et al. Mod Pathol 2012)。さらに、画像解析システムを用いて核径を計測し、15 μm よりも大きいものを大型核として分類した。Kaplan-Meier 法により全生存期間と無増悪生存期間を解析した。

画像解析システムを用いた核径の計測では、大型核を有する癌細胞の存在は、全生存期間の短縮に関連していた (中間値: 8.4 ヶ月対 20.7 ヶ月、 $p < 0.001$)。大型核の癌細胞は治療開始後の無増悪生存期間の短縮にも関連していた (中間値: 3.9 ヶ月 対 6.4 ヶ月、 $p < 0.001$)。

リンパ球を用いた核径の計測では、大型核を有する癌細胞の存在は、全生存期間の短縮に関連していた (中間値: 6.5 ヶ月対 23.4 ヶ月、 $p < 0.001$)。大型核の癌細胞は治療開始後の無増悪生存期間の短縮にも関連していた (中間値: 3.8 ヶ月 対 6.9 ヶ月、 $p < 0.001$)。

Figure 1



核径と患者の臨床病理学的背景との関連性に関して、画像解析システムとリンパ球を用いた核径計測の関連性について (Figure 2)

男性は女性と比較すると、統計学的に有意により大きな癌細胞核を有していた ($p = 0.035$)。

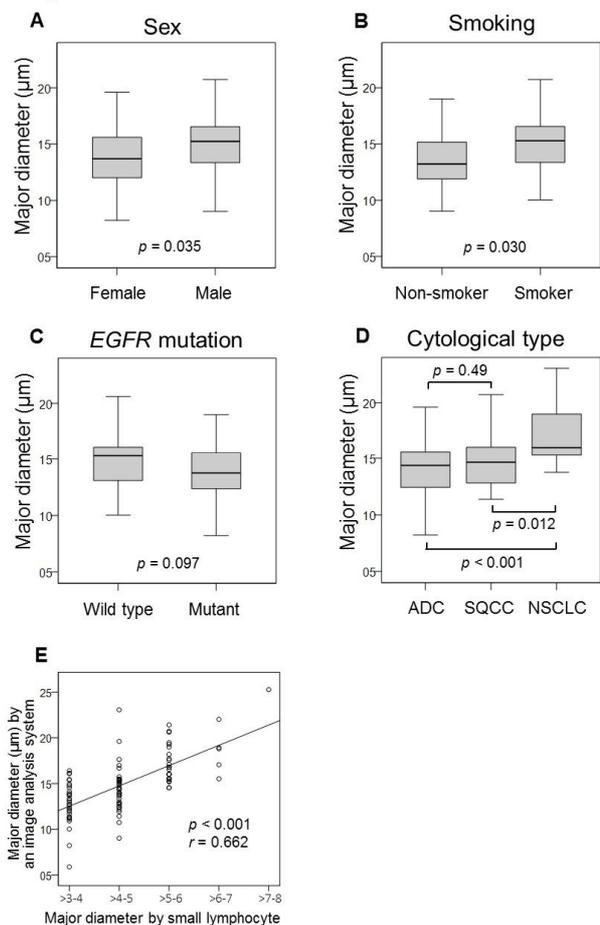
喫煙者や非喫煙者と比較すると、統計学的に有意により大きな癌細胞核を有していた ($p = 0.030$)。

EGFR 遺伝子変異を有する癌細胞は、EGFR 遺伝子変異を有さない癌細胞と比較して、より小さな癌細胞核を有する傾向があった ($p = 0.097$)。

非小細胞癌と診断された症例は、腺癌や扁平上皮癌と確定された症例と比較して、統計学的に有意により大きな癌細胞核を有していた ($p < 0.001$)。

画像解析システムとリンパ球を用いた核径の計測値に関しては、中等度程度の相関性がみられた (相関係数 = 0.662)。

Figure 2



予後の多変量解析

多変量解析においても、大型核の存在が患者の独立した予後不良因子となることが示された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計1件)

Kadota K, Miyai Y, Katsuki N, Kushida Y, Matsunaga T, Okuda M, Yokomise H, Kanaji N, Bandoh S, Haba R.
Nuclear grade based on transbronchial cytology is an independent prognostic factor in patients with advanced, unresectable non-small cell lung cancer. Cancer Cytopathol. 2016 Sep;124(9):630-40. doi: 10.1002/cncy.21736. Epub 2016 May 13. 査読あり

〔学会発表〕(計1件)

門田球一、宮井由美、香月奈穂美、串田吉生、松永徹、奥田昌也、横見瀬裕保、金地伸拓、坂東修二、羽場礼次。
進行期非小細胞肺癌(NSCLC)における気管支擦過細胞診標本を用いた核グレードの予後因子としての検討
日本病理学会総会。2016年。仙台

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

無し

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

6. 研究組織

(1)研究代表者

門田 球一(KADOTA, Kyuichi)
香川大学・医学部病理診断科・助教

研究者番号：13171342

(2)研究分担者

無し