

平成 30 年 6 月 25 日現在

機関番号：83901

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26461041

研究課題名(和文)膵神経内分泌腫瘍における新たな分子生物学的分類と個別化治療への応用に関する研究

研究課題名(英文) Study on the novel molecular classification and individual therapy for pancreatic neuroendocrine carcinoma.

研究代表者

水野 伸匡 (Mizuno, Nobumasa)

愛知県がんセンター(研究所)・腫瘍免疫学部・研究員

研究者番号：80399592

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：膵神経内分泌癌(pNEC)の臨床病理および分子生物学的特徴と化学療法への反応について検討した。WHO2010分類におけるpNECを100例集積し、病理中判定で70例がNEC(高分化なNET-G3が21、低分化NEC(PDNEC)は49)であり、30例はNEC以外であった。NET-G3はKi-67 LI低値、Rb染色は正常、KRAS野生型であった。PDNECではKi-67 LIは高値、Rb lossを54.5%、KRAS変異を48.7%に認めた。NET-G3とPDNECは異なる疾患であり、Rb lossとKRAS変異はプラチナベース化学療法に対する奏効の予測因子である可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We examined the clinicopathological and molecular features of pancreatic neuroendocrine carcinoma (pNEC) based on the WHO2010 (WHO-NEC). 100 patients with pNEC were collected from 31 institutions. After central review characteristics of histological subtype (NET-G3 vs. poorly differentiated NEC (PDNEC)), 70 patients analyzed included 21 NETs-G3 (30%) and 49 PDNEC (70%). NET-G3 showed lower Ki67-LI (median 28.5%), no abnormal Rb expression (0%), and no mutated KRAS (0%), whereas PDNEC showed higher Ki67-LI (median 80.0%), Rb loss (54.5%), and KRAS mutations (48.7%). PanNENs-G3 with Rb loss and those with mutated KRAS showed significantly higher response rates to platinum-based chemotherapy (PBC) than those without (Rb loss, 80% vs. normal Rb, 24%,  $p=0.006$ ; mutated KRAS, 77% vs. wild-type, 23%,  $p=0.023$ ). NET-G3 and PDNEC showed distinct clinicopathological characteristics. Rb and KRAS are promising predictors of response to PBC for pNEC.

研究分野：消化器内科学、臨床腫瘍学

キーワード：膵神経内分泌癌 KRAS Rb プラチナベース化学療法 NET-G3 NEC

### 1. 研究開始当初の背景

WHO2010 分類では神経内分泌腫瘍 (NET)は核分裂像、あるいはKi-67 指数に基づき NET G1、NET G2、NEC に分類される。進行した NET G1 および G2 では分子標的薬が有効である一方、NEC では毒性の強いプラチナベースの全身化学療法が推奨される。最近の研究で NEC を Ki-67 指数 (Ki-67 LI、55%を cut-off)で分類したとき、予後および治療反応性が異なることが報告されている。しかし Ki-67 LI は免疫組織化学染色 (IHC) で評価するため信頼性に欠ける。

### 2. 研究の目的

本研究では肺腺癌や乳癌で取り入れられていると同じように、膵 NET の分子生物学的分類の確立を目指し、個別化治療へ直結する有用性の高い新たな分類の確立を目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) 多施設共同研究：

JCOG 肝胆膵グループ参加施設と全国の NET 症例を多く診療している病院を中心に WHO2010 分類で NEC と診断した膵原発 NET (pNEC)症例の未染色プレパラートを臨床情報とともに愛知県がんセンター中央病院に収集した。

(2) 2名の独立した病理医による病理中央判定を実施し、WHO2010 分類における NEC を抽出する。NEC を低分化神経内分泌癌 (PDNEC) (small cell NEC (SCNEC)、large cell NEC (LCNEC)に細分類)と、高分化な NET-G3 に分類した。

(3) *KRAS*変異は cycleve PCR 法で、Rb 発現は免疫組織化学で検討した。

(4) NEC の細分類に基づく病理診断と、Ki-67 LI、*KRAS*変異、Rb 染色異常などとの関係、分子生物学特徴と化学療法への反

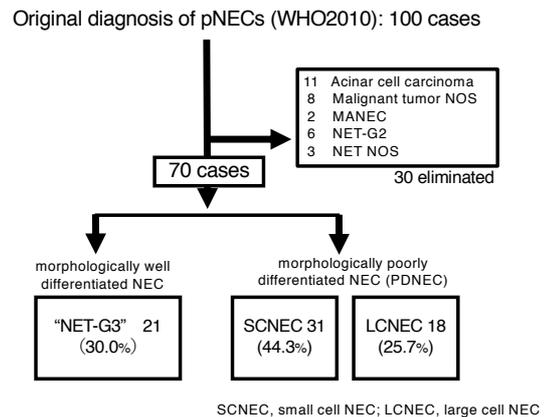
応性等を検討した。

### 4. 研究成果

#### (1) 病理中央判定結果 (図1)

国内 31 施設より 100 症例を集積した。病理中央判定にて WHO2010 分類で 70 例を NEC と診断した。NEC 以外と診断した 30 例の内訳は、腺房細胞癌 11、分類不能な悪性腫瘍 8、MANEC 2、NET-G2 2、NET-NOS 2 であった。NEC と診断した 70 例中、49 例 (70%) が PDNEC であり、細分類では 31 例が SCNEC、18 例が LCNEC であった。70 例中 21 例 (30%) が NET-G3 であった。

(図1)



#### (2) 病理組織・*KRAS*変異解析結果 (表1)

NET-G3 では KI-67 LI は低く (median 28.5%)、Rb 発現異常はなく (0%)、*KRAS* 変異は認めなかった (0%)。PDNEC では KI-67 LI は高く (median 80.0%)、Rb 発現消失を 54.5%、*KRAS*変異を 48.7%に認めた。NET-G3 に比べ Ki-67 LI は PDNEC で有意に高く ( $P \leq 0.0001$ )、Rb 発現消失および *KRAS*変異は PDNEC で有意 (ともに  $P \leq 0.0001$ ) に高頻度に認めた。

表1. 病理学的特徴

|                     | NET-G3<br>(n=21) | PDNEC (n=49)    |                 | P      |
|---------------------|------------------|-----------------|-----------------|--------|
|                     |                  | SCNEC<br>(n=31) | LCNEC<br>(n=18) |        |
| Ki-67中央値<br>(range) | 28.5% (15-53)    | 80.0% (22-100)  |                 | <0.001 |
|                     |                  | 85.0% (50-100)  | 70.0% (22-90)   |        |
| Rb消失                | 0% (0/21)        | 54.5% (24/44)   |                 | <0.001 |
|                     |                  | 59.2% (16/27)   | 47.0% (8/17)    |        |
| KRAS変異              | 0% (0/21)        | 48.7% (21/41)   |                 | <0.001 |
|                     |                  | 48% (12/25)     | 50% (8/16)      |        |
| Rb消失 + KRAS変異       | 0% (0/21)        | 30% (12/40)     |                 | <0.001 |
|                     |                  | 36% (9/25)      | 10% (3/15)      |        |

## (3) プラチナベース化学療法への反応性

プラチナベース化学療法に対する奏効割合はNET-G3では0% (0/16)であったのに対してPDNECでは51.3% (20/39)とPDNECで有意に高かった ( $P \leq 0.001$ )。一次治療に限定するとNET-G3では0% (0/8)であったのに対してPDNECでは61.3% (19/31)であった ( $P \leq 0.001$ ) (表2)。

表2. プラチナベース化学療法への反応

|                        | NET-G3<br>(n=21) | PDNEC (n=49)    |                 | P      |
|------------------------|------------------|-----------------|-----------------|--------|
|                        |                  | SCNEC<br>(n=31) | LCNEC<br>(n=18) |        |
|                        |                  | 61.3% (19/31)   |                 | <0.001 |
| RR to PBC (first line) | 0% (0/8)         | 68.2% (15/22)   | 44.4% (4/9)     |        |
|                        |                  | 55.9% (19/34)   |                 | <0.001 |
| RR to PBC (total line) | 0% (0/10)        | 60.0% (15/25)   | 44.4% (4/9)     |        |

RR, response rate; PBC, platinum-bese chemotherapy

KRAS変異およびRb発現とプラチナベース化学療法に対する奏効割合について検討した。その結果、KRAS変異例はKRAS野生型に比べ有意に高い奏効割合を示した (63% vs. 21%,  $P=0.006$ )。特に一次治療ではKRAS変異例で77%、KRAS野生型例では23%であった ( $P=0.023$ )。Rb発現も同様の結果であり、Rb発現消失例はRb発現正常例に比べ有意に高い奏効割合を示した (71% vs. 21%,  $P=0.003$ )。特に一次治療ではRb発現消失例で80%、Rb発現正常例では24%であった ( $P=0.006$ )。症例数は少なくなるものの、KRAS変異かつRb発現消失の場合、奏効割合は100% (8/8)であり、KRAS野生型かつRb発現正常では18% (3/17)であった ( $P \leq 0.001$ ) (表3)。

表3. プラチナベース化学療法とKRAS/Rb statusとの関連

| PBC           | KRAS変異<br>(n=16) | KRAS野生型<br>(n=28) | P     |
|---------------|------------------|-------------------|-------|
| First-line RR | 77% (10/13)      | 23% (6/26)        | 0.023 |
| Total line RR | 63% (10/16)      | 21% (6/28)        | 0.006 |

| PBC           | Rb消失<br>(n=17) | Rb正常<br>(n=24) | P     |
|---------------|----------------|----------------|-------|
| First-line RR | 80% (12/15)    | 24% (5/21)     | 0.006 |
| Total line RR | 71% (12/17)    | 21% (5/24)     | 0.003 |

| PBC           | KRAS変異 &<br>Rb消失 (n=10) | KRAS野生型 &<br>Rb正常 (n=19) | P      |
|---------------|-------------------------|--------------------------|--------|
| First-line RR | 100% (8/8)              | 17.6% (3/17)             | <0.001 |
| Total line RR | 80% (8/10)              | 15.7% (3/19)             | 0.001  |

PBC, platinum-bese chemotherapy; RR, response rate

## (4) プラチナベース化学療法への反応の予測因子

RB発現消失とKRAS変異とともにプラチナベース化学療法に対する反応の強い予測因子 (Odds ratio 16.5; 95%CI, 2.69-101.33、OR 7.5; 95%CI, 1.49-37.65)であった。またPDNECに限ると、RB発現消失のみがプラチナベース化学療法に対する反応の有意な予測因子であった (OR 7.7; 95%CI, 1.16-51.1;  $P=0.035$ )。

## (5) 結論

NET-G3とPDNECは全く異なった特徴を示した。特にNET-G3ではプラチナベース化学療法への反応は認められなかった。RbおよびKRASはWHO2010のNECにおけるプラチナベース化学療法の予測因子である可能性が示唆された。

## 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3件)

1. Hijioka S, Hosoda W, Matsuo K, Ueno M, Furukawa M, Yoshitomi H, Kobayashi N, Ikeda M, Ito T, Nakamori S, Ishii H, Kodama Y, Morizane C, Okusaka T,

- Yanagimoto H, Notohara K, Taguchi H, Kitano M, Yane K, Maguchi H, Tsuchiya Y, Komoto I, Tanaka H, Tsuji A, Hashigo S, Kawaguchi Y, Mine T, Kanno A, Murohisa G, Miyabe K, Takagi T, Matayoshi N, Yoshida T, Hara K, Imamura M, Furuse J, Yatabe Y, Mizuno N. Rb Loss and KRAS Mutation Are Predictors of the Response to Platinum-Based Chemotherapy in Pancreatic Neuroendocrine Neoplasm with Grade 3: A Japanese Multicenter Pancreatic NEN-G3 Study. Clin Cancer Res 2017;23:4625-4632. (DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-3135)
2. Hijioka S, Hara K, Mizuno N, Imaoka H, Bhatia V, Mekky MA, Yoshimura K, Yoshida T, Okuno N, Hieda N, Tajika M, Tanaka T, Ishihara M, Yatabe Y, Shimizu Y, Niwa Y, Yamao K. Diagnostic performance and factors influencing the accuracy of EUS-FNA of pancreatic neuroendocrine neoplasms. J Gastroenterol 2016;51:923-30. (DOI: 10.1007/s00535-016-1164-6)
3. Hijioka S, Hosoda W, Mizuno N, Hara K, Imaoka H, Bhatia V, Mekky MA, Tajika M, Tanaka T, Ishihara M, Yogi T, Tsutumi H, Fujiyoshi T, Sato T, Hieda N, Yoshida T, Okuno N, Shimizu Y, Yatabe Y, Niwa Y, Yamao K. Does the WHO 2010 classification of pancreatic neuroendocrine neoplasms accurately characterize

pancreatic neuroendocrine carcinomas? J Gastroenterol 2015;50:564-72. (DOI: 10.1007/s00535-014-0987-2)

〔学会発表〕（計 11 件）

1. 松本慎平, 肱岡範, 今村正之, 上野誠, 古川正幸, 吉富秀幸, 小林規俊, 池田公史, 伊藤鉄英, 中森正二, 石井浩, 児玉祐三, 森実千種, 柳本泰明, 北野雅之, 真口宏介, 河本泉, 古瀬純司, 原和生, 水野伸匡. 膵神経内分泌癌における外科手術の意義 : Japan NEC study のサブグループ解析. 第 5 回日本神経内分泌腫瘍研究会学術集会, 仙台, 2017 年 09 月 2 日.
2. 岩屋博道, 肱岡範, 水野伸匡, 桑原崇通, 奥野のぞみ, 安田宗司, 栗田裕介, 田中宏樹, 小畑雅寛, 倉岡直亮, 松本慎平, 伊東文子, 夏目誠治, 千田嘉毅, 清水泰博, 谷田部恭, 原和生. 膵 NEN-G3 の臨床病理学的特徴と治療戦略についての検討. 第 5 回日本神経内分泌腫瘍研究会学術集会, 仙台, 2017 年 09 月 2 日.
3. 渋谷仁, 大石敬之, 肱岡範, 原和生, 水野伸匡, 坂本康成, 近藤俊輔, 森実千種, 上野秀樹, 奥坂拓志. 膵神経内分泌腫瘍に対するストレプトゾシン単剤治療の成績. 第 14 回日本臨床腫瘍学会学術集会, 神戸市、兵庫県, 2016 年 7 月.
4. Yoshida T, Hijioka S, Yoshitomi H, Furukawa M, Nakamori S, Yane K, Morizane C, Yanagimoto H, Tsuchiya Y, Matsusaki S, Mine T, Ishii H, Tsuji A, Furuse J, Yatabe Y, Mizuno N. The role of surgery for pancreatic neuroendocrine carcinoma (pNEC), a subgroup

- analysis of Japan pNEC study., In Joint Conference of International Association of Pancreatplogy, Japan Pancreas Society and the Asian Oceanic Pancreatic Association 2016, Sendai, Miyagi, Japan, Aug, 2016.
5. Mizuno N, Hijioka S, Ueno M, Furukawa M, Yoshitomi H, Ikeda M, Kobayashi N, Morizane C, Taguchi H, Kitano M, Komoto I, Kiojima Y, Matayoshi N, Murohisa T, Kanno A, Takagi T, Sakaguchi M, Furuse J, Yatabe Y. Rb expression and KRAS mutation as predictors of response to platinum-based chemotherapy (PBC) of small and large cell neuroendocrine carcinoma (NEC): a subgroup analysis of the Japan pNEC study., In Joint Conference of International Association of Pancreatplogy, Japan Pancreas Society and the Asian Oceanic Pancreatic Association 2016, Sendai, Miyagi, Japan, Aug, 2016.
  6. Hijioka S, Hosoda W, Matsuo K, Ueno M, Furukawa M, Yoshitomi H, Ikeda M, Ito T, Nakamori S, Ishii H, Kodama Y, Morizane C, Yanagimoto Y, Notohara K, Furuse J, Yatabe Y, Mizuno N, Japan pNEC Study Group. Clinicopathological features and response to platinum-based chemotherapy in pancreatic neuroendocrine carcinoma: a retrospective multicenter study of 70 patients., In 2016 Gastrointestinal Cancers Symposium, San Francisco, CA, USA, Jan, 2016.
  7. Mizuno N, Hosoda W, Matsuo K, Ueno M, Furukawa M, Yoshitomi H, Ikeda M, Kobayashi N, Nakamori S, Ishii H, Kodama Y, Morizane C, Yanagimoto H, Yane K, Tsuchiya Y, Notohara K, Furuse J, Yatabe Y, Hijioka S, Japan pNEC Study Group. Clinicopathological features and response to platinum-based chemotherapy (PBC) in pancreatic neuroendocrine carcinoma (pNEC): Updated results of Japan pNEC study., In ASCO 2016 (publication only), Chicago, IL, USA, Jun, 2016.
  8. Hijioka S, Hosoda W, Matsuo K, Ueno M, Furukawa M, Yoshitomi H, Ikeda M, Furuse J, Yatabe Y, Mizuno N. Clinicopathological analyses in pancreatic neuroendocrine carcinoma (pNEC); a retrospective multicenter study. 第14回日本臨床腫瘍学会学術集会, 神戸市、兵庫県, 2016年7月.
  9. 脇岡 範, 水野伸匡, 原和生. 膵 NEC に対する治療戦略ワークショップ 8: 胆膵領域における NET 治療の新展開. 第101回日本消化器病学会総会, 宮城県仙台市, 2015年4月.
  10. Yoshida T, Hijioka S, Mizuno N, Hara K, Imaok H, Hieda N, Okuno N, Tajika M, Niwa Y, Yamao K. Treatment strategy for pancreatic neuroendocrine carcinoma. 第13回日本臨床腫瘍学会学術集会, 北海道札幌市, 2015年7月.
  11. Morizane C, Machida N, Honma Y, Okusaka T, Boku N, Kato K, Mizusawa J, Katayama H, Hiraoka

N, Taniguchi H, Ikeda M, Shibuya Y, Hosokawa A, Mizuno N, Sano T, Tsuda M, Yokosuka O, Kitagawa Y, Sasako M, Furuse J, Japan Clinical Oncology Group (JCOG).

Randomized phase III study of etoposide plus cisplatin versus irinotecan plus cisplatin in advanced neuroendocrine carcinoma of the digestive system: A Japan Clinical Oncology Group study (JCOG1213). ASCO 2015. Chicago, IL, USA, 2015.

12. 水野伸匡, 肱岡範, 原和夫, 今岡大, 清水泰博, 細田和貴, 谷田部恭, 山雄健次. 膵神経内分泌腫瘍診断におけるピットフォールと超音波内視鏡下穿刺吸引法 (EUS-FNA)の位置づけ。ワークショップ-1「NET 日常診療のピットフォール」。第2回日本神経内分泌腫瘍研究会学術集会, 東京都文京区, , 2014年9月20日.

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

[その他]  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

水野伸匡 (MIZUNO, Nobumasa)  
愛知県がんセンター (研究所)・腫瘍免疫学部・研究員  
研究者番号：80399592

### (2) 研究分担者

細田和貴 (HOSODA, Waki)  
愛知県がんセンター (研究所)・分子病態学部・研究員  
研究者番号：00728412  
(平成27年4月23日まで)

肱岡 範 (HIJIOKA, Susumu)  
国立がん研究センター中央病院・肝胆膵内科・医長  
研究者番号：50765394  
(平成27年8月24日より)

### (3) 連携研究者

谷田部 恭 (YATABE, Yasushi)  
愛知県がんセンター (研究所)・分子腫瘍学部・研究員  
研究者番号：90280809

### (4) 研究協力者

( )