

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 30 日現在

機関番号：32661

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462140

研究課題名(和文)超音波気管支鏡下生検による肺癌予後予測診断システムの構築

研究課題名(英文) Prediction of prognoses from biomarker expression in patients with advanced primary lung cancer by endobronchial ultrasound transbronchial needle aspiration.

研究代表者

秦 美暢 (HATA, Yoshinobu)

東邦大学・医学部・准教授

研究者番号：90349910

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)：縦隔リンパ節転移を有し術前化学放射線療法後に切除した進行肺癌20例に対し、主病巣及び転移リンパ節の生検検体と手術標本を用いて、class III beta-tubulinとexcision repair cross-complementing 1の蛋白発現を解析し、治療効果及び予後と比較検討した。組織学的効果が著効及び中等度であった症例は有意に予後良好であったが、生検検体からの予測は困難であった。両者ともに高発現であった症例は予後不良であったが有意差は認められなかった。予後因子として強いものではないが、集学的治療における個別化治療の構築に有用な結果と思われた。

研究成果の概要(英文)：We analyzed biomarker expression in 20 patients with cN2 stage IIIA lung cancer who underwent induction chemoradiotherapy (carboplatin and docetaxel) and surgery. Immunohistochemistry for class III beta-tubulin (TUBB3) and excision repair cross-complementing 1 (ERCC1) expression was performed in tissue samples obtained before the induction chemoradiotherapy and in surgically resected specimens. Patients who showed a major pathological response exhibited significantly better survival than patients with a minor response. The expression of TUBB3 or ERCC1 in biopsy specimens before induction therapy did not significantly correlate with a pathological response. Patients with high expression of both TUBB3 and ERCC1 showed poor survival, but this was not statistically significant. We postulate that TUBB3 and ERCC1 may act as predictive biomarkers for cN2 stage IIIA lung cancer, albeit with a minor impact. Further studies are required with increased patient numbers.

研究分野：呼吸器外科学

キーワード：肺癌 術前導入療法 TUBB3 ERCC1

1. 研究開始当初の背景

肺癌は日本人の死亡率第一位の悪性腫瘍であり、罹患数も増えて女性にも急増しており、その治療成績の向上は喫緊の課題である。しかし早期発見、早期治療に対する努力がなされているにもかかわらず、依然として肺癌の根治切除可能な症例の割合は低く、切除肺癌においても全症例の5年生存率は69%にとどまり(2011年全国集計)その治療成績は満足できるものではない。肺癌は多様な病態であるにも関わらず、小細胞癌、非小細胞癌という細胞形態に基づいた単純な枠組みで治療方法が決められてきており、個々の病態に対応できていないことが一因であると考えている。

肺癌に対する分子標的薬としては、Epidermal Growth Factor Receptor-Tyrosine kinase inhibitor (EGFR-TKI)である gefitinib と erlotinib や、EML4-ALK 融合遺伝子陽性肺癌に対する crizotinib が臨床に導入されている。今後、肺癌に対する根治的治療の可能性を広げ、その予後を改善するためには、単に、小細胞癌、非小細胞癌という単純な枠組みでなく、分子生物学的手法を用いた新しい診断基準に基づくアプローチが必要である。

特に EGFR 遺伝子変異のある肺癌に対する治療においては、治療中に出現する治療耐性を克服することが重要な課題である。これに対しては、耐性遺伝子の出現を治療中にモニタリングすることを目的とした末梢血循環腫瘍細胞の検出や末梢血血清中遊離DNAに対する遺伝子増幅を検討して報告してきた (Anticancer Res. 2012;32:3339-3344.)。一方、EGFR 遺伝子変異を有していても EGFR-TKI の効果が一定ではないため、TKI に対する反応に遺伝的修飾因子の存在が考えられている。そのひとつに、BCL-2 ファミリーに属するアポトーシス促進因子である BCL2-like 11 (BIM) の欠失多型がある。Germ cell line の多型でありながら、BIM 欠失多型が EGFR-TKI の自然耐性の原因となっており、そのことを示すアジア多施設共同研究に参加した(Nat. Med. 2012;18:521-528.)。

こうした分子標的薬に対する反応の不均一性の解析や、その耐性化の克服を通じて、切除不能進行肺癌の治療成績向上を得るには、術前放射線化学療法における個別化治療システムの構築が効果的と考えられる。切除不能進行肺癌の集学的治療においては、術前放射線療法による組織学的治療効果を向上させることが治療成績向上に直結すると考えられるため、個別化治療の導入によって更なる成績の向上が期待できる。切除不能進行肺癌からの確実かつ反復可能な組織の採取には、肺門縦隔の転移リンパ節に対する超音波気管支鏡下生検が非常に有効であり、治療前から治療中を通じて遺伝子変異のモニタリングにも適応可能と考えられる。こうした

知見を基にして、進行肺癌に対する集学的治療にゲノム医学の手法を加えることにより、個々の患者に最も適したテーラーメイド医療の実施と治療成績の向上が期待される。

2. 研究の目的

進行肺癌に対する集学的治療を用いた予後改善のため、超音波気管支鏡を用いた確実なサンプリングに基づいた個別化治療のシステム構築を目指して、増殖や転移の分子メカニズムを解析する。すなわち、より効果的な術前導入化学療法を症例毎の分子生物学的特徴に基づいて個別にデザインすることにより、切除不能肺癌の down staging 及び根治切除率と予後の改善を目標とする。

3. 研究の方法

縦隔リンパ節転移を有する進行非小細胞肺癌(cT1-3N2M0, Stage IIIA)で carboplatin と docetaxel を用いた術前化学放射線療法後に手術を施行した20例を対象とし、術前化学療法施行前の主病巣及び転移リンパ節の生検検体と切除標本を用いて、class III beta-tubulin (TUBB3) と excision repair cross-complementing 1 (ERCC1) の蛋白発現を解析し、その結果を治療効果及び予後と比較検討した。

4. 研究成果

切除20例では、臨床的治療効果が完全奏功及び部分奏功(CR+PR)の15例は安定(SD)の5例より予後良好な傾向であったが、有意差は認められず(図1. $p = 0.2927$)。組織学的治療効果が著効及び中等度(Ef. 2+3)の12例は軽度(Ef. 1)の8例より有意に予後良好であった(図2. $p = 0.0003$)。

TUBB3 の高発現は、術前主病巣生検検体で67%、術前リンパ節生検検体で71%(図3、図4)、術前治療後の切除検体では53%であった。ERCC1 の高発現は、術前主病巣生検検体で56%、術前リンパ節生検検体で57%(図5)、術前治療後の切除検体では20%であった。術前の主病巣とリンパ節生検検体で発現強度が比較可能な症例での一致率は、TUBB3 は100%一致しており、ERCC1 は50%であった。術前主病巣またはリンパ節生検検体と術前治療後切除検体とで発現強度が比較可能な症例では、TUBB3 は治療前後で同程度45%、治療後に低下36%、治療後に増強18%であり、ERCC1 では同程度45%、低下55%、増強0%であった。術前主病巣またはリンパ節生検検体でのTUBB3あるいはERCC1 の発現強度と切除検体における病理学的効果判定とは有意の相関は認められなかった。

術前主病巣またはリンパ節生検検体でのTUBB3あるいはERCC1 の発現強度と術後生存期間の比較では、TUBB3 高発現例で予後不良な傾向がみられたがいずれも有意差は認められなかった(図6. $p = 0.0905$ 、図

7. $p = 0.9427$)。また、TUBB3 及び ERCC1 の両方が高発現であった症例は予後不良な傾向であったが、有意差は認められなかった (図 8. $p = 0.1415$)。

術前生検検体における TUBB3 及び ERCC1 の発現強度は、carboplatin と docetaxel を用いた術前化学放射線療法の予後予測因子として有用である可能性が示唆されたが有意差は認められなかった。予後因子として強いものではないが、集学的治療における個別化治療の構築に有用な結果と思われた。

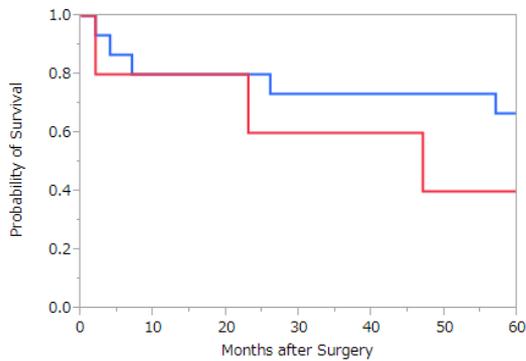


図 1. 臨床的治療効果と術後生存率
青：CR+PR、赤：SD、 $p = 0.2927$

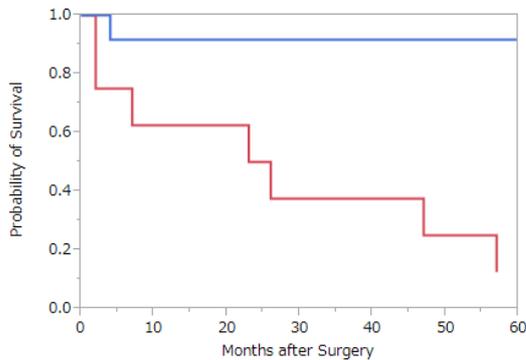


図 2. 組織学的治療効果と術後生存率
青：Ef. 2+3、赤：Ef. 1、 $p = 0.0003$

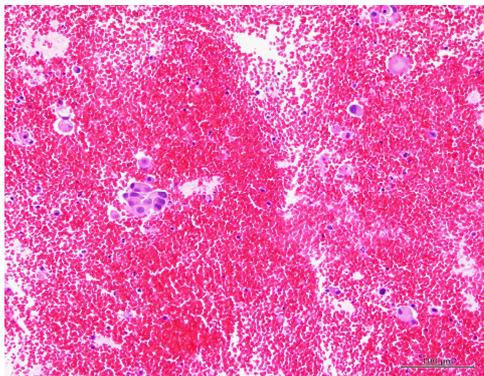


図 3 転移リンパ節の EBUS-TBNA 生検検体 Hematoxylin-Eosin 染色 (x20)

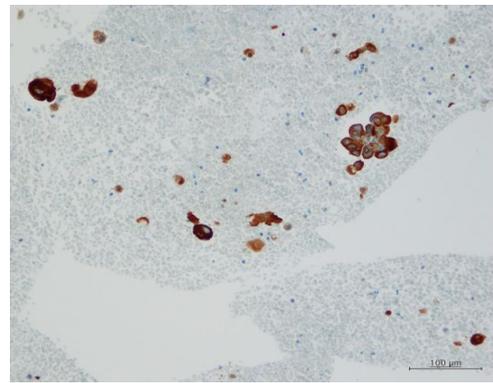


図 4 転移リンパ節の EBUS-TBNA 生検検体 TUBB3 免疫染色

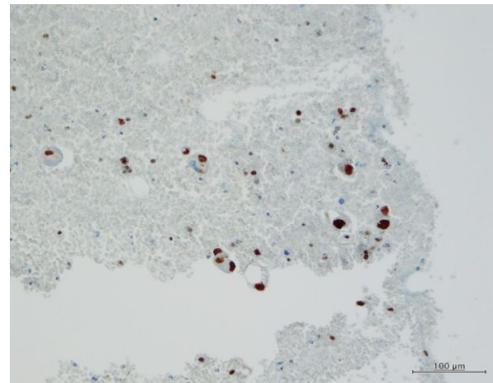


図 5 転移リンパ節の EBUS-TBNA 生検検体 ERCC1 免疫染色

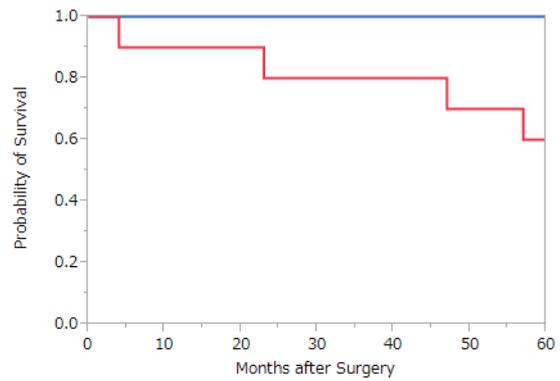


図 6. 生検検体 TUBB3 発現度と術後生存率
青：低発現、赤：高発現、 $p = 0.0905$

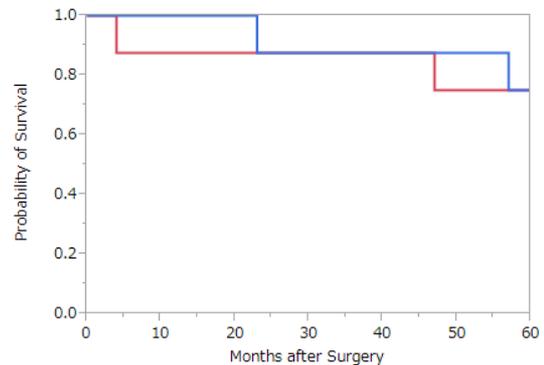


図 7. 生検検体 ERCC1 発現度と術後生存率
青：低発現、赤：高発現、 $p = 0.9427$

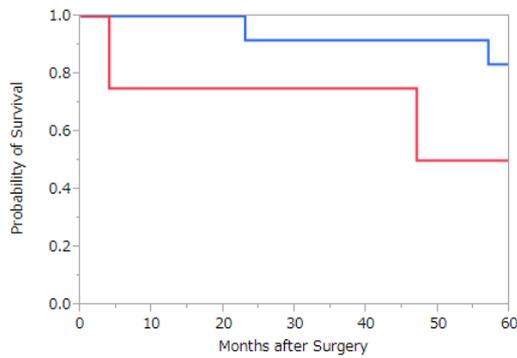


図 8 . 生検検体の TUBB3 及び ERCC1 発現度と術後生存率、青：いずれか低発現、赤：両者とも高発現、 $p = 0.1415$

さらに付随研究として、「Isobe K, Iyoda A, et al. Association of BIM Deletion Polymorphism and BIM- γ RNA Expression in NSCLC with EGFR Mutation. Cancer Genomics Proteomics. 2016;13:475-482.」に EGFR 遺伝子変異のある肺癌における BIM 多形について報告、「Otsuka H, Hata Y, et al. Clinical features and prognoses in patients with lung cancer and combined pulmonary fibrosis and emphysema. Molecular and Clinical Oncology. 2016; 5:273-278.」に気腫合併間質性肺炎に併発した肺癌の治療成績について報告、「Makino T, Hata Y, et al. Predicted extracapsular invasion of hilar lymph node metastasis by fusion positron emission tomography/computed tomography in patients with lung cancer. Molecular and clinical oncology. 2015;3:1035-1040.」に FDG-PET による肺門リンパ節転移の節外浸潤予測について報告、「Koezuka S, Hata Y, et al. Metachronous second primary lung cancer surgically treated five years or more after the initial surgery. Molecular and clinical oncology. 2015;3:1025-1028.」に異時性重複癌の治療成績について報告、「Isobe K, Hata Y, et al. Usefulness of nanofluidic digital PCR arrays to quantify T790M mutation in EGFR-mutant lung adenocarcinoma. Cancer Genomics Proteomics. 2015;12:31-37.」に EGFR 遺伝子変異陽性肺癌における耐性遺伝子の高感度検出方法について報告、「Yuasa R, Hata Y, et al. Placement of self-expandable metallic stents for tracheal stenosis secondary to thyroid cancer. Molecular and Clinical Oncology. 2014;2:1003-1008.」に頸部気管悪性狭窄に対する金属ステント治療成績について報告、「Koezuka S, Hata Y, et al. Malignant peripheral nerve sheath tumor in the anterior mediastinum, report of a case. Molecular and Clinical Oncology. 2014;2:987-990.」に前縦隔悪性神経鞘腫の症例報告を行い、いずれも acknowledgement に本研究によるサポートを受けた趣旨を記

載した。

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 14 件)

Isobe K, Kakimoto A, Mikami T, Kaburaki K, Kobayashi H, Yoshizawa T, Makino T, Otsuka H, Sano G, Sugino K, Sakamoto S, Takai Y, Tochigi N, Iyoda A, Homma S: Association of BIM Deletion Polymorphism and BIM- γ RNA Expression in NSCLC with EGFR Mutation. Cancer Genomics Proteomics. 査読有, 13:475-482, 2016. <http://cgp.iarjournals.org/content/13/6/475.long>

Otsuka H, Sugino K, Hata Y, Makino T, Koezuka S, Isobe K, Tochigi N, Shibuya K, Homma S, Iyoda A. Clinical features and prognoses in patients with lung cancer and combined pulmonary fibrosis and emphysema. Molecular and Clinical Oncology. 査読有, 5:273-278, 2016. DOI: 10.3892/mco.2016.954

Makino T, Hata Y, Otsuka H, Koezuka S, Isobe K, Tochigi N, Shiraga N, Shibuya K, Homma S, Iyoda A. Predicted extracapsular invasion of hilar lymph node metastasis by fusion positron emission tomography/computed tomography in patients with lung cancer. Molecular and clinical oncology. 査読有, 3:1035-1040, 2015. DOI : 10.3892/mco.2015.596

Koezuka S, Hata Y, Otsuka H, Makino T, Tochigi N, Shibuya K, Iyoda A. Metachronous second primary lung cancer surgically treated five years or more after the initial surgery. Molecular and clinical oncology. 査読有, 3:1025-1028, 2015. DOI : 10.3892/mco.2015.594

Isobe K, Hata Y, Tochigi N, Kaburaki K, Kobayashi H, Makino T, Otsuka H, Ishida F, Kikuchi N, Hirota N, Sato K, Sano G, Sugino K, Sakamoto S, Takai Y, Shibuya K, Iyoda A, Homma S. Usefulness of nanofluidic digital PCR arrays to quantify T790M mutation in EGFR-mutant lung adenocarcinoma. Cancer Genomics Proteomics. 査読有,12:31-37, 2015.

<http://cgj.iiarjournals.org/content/12/1/31.long>

Yuasa R, Hata Y, Otsuka H, Makino T, Koezuka S, Sato F, Tamaki K, Sasamoto S, Takagi K, Iyoda A. Placement of self-expandable metallic stents for tracheal stenosis secondary to thyroid cancer. *Molecular and Clinical Oncology*. 査読有, 2:1003-1008, 2014.
DOI:10.3892/mco.2014.350

Koezuka S, Hata Y, Sato F, Makino T, Otsuka H, Tochigi N, Mitsuda A, Shibuya K, Takagi K, Iyoda A. Malignant peripheral nerve sheath tumor in the anterior mediastinum, report of a case. *Molecular and Clinical Oncology*. 査読有. 2:987-990, 2014.
DOI: 10.3892/mco.2014.343

〔学会発表〕(計 34 件)

牧野崇, 大塚創, 磯部和順, 秦美暢, 肥塚智, 安積隆, 杉野圭史, 本間栄, 栃木直文, 渋谷和俊, 伊豫田明: 進行肺癌における外科治療はどうあるべきか 進行非小細胞肺癌に対する治療戦略 術前導入化学放射線療法後の外科治療について. 第 78 回日本臨床外科学会総会, グランドプリンスホテル新高輪 (東京都港区), 2016/11/24

牧野崇, 三上哲夫, 栃木直文, 秦美暢, 肥塚智, 大塚創, 磯部和順, 本間栄, 渋谷和俊, 伊豫田明: LCNEC 切除例における EGFR 遺伝子変異の検討 - 遺伝子検査と免疫組織学的検査を用いた肺癌との比較検討 - . 第 56 回日本肺癌学会学術集会, パシフィコ横浜(神奈川県横浜市), 2015/11/28

秦美暢, 大塚創, 牧野崇, 肥塚智, 磯部和順, 本間栄, 栃木直文, 渋谷和俊, 伊豫田明: cN2 非小細胞肺癌に対する CBDCA/DOC を用いた導入化学放射線療法の検討. 第 32 回日本呼吸器外科学会総会, JR ホテルクレメント高松 (香川県高松市), 2015/5/14

秦美暢, 大塚創, 牧野崇, 肥塚智, 磯部和順, 本間栄, 栃木直文, 渋谷和俊, 伊豫田明: cN2IIIA 非小細胞肺癌に対する CBDCA/DOC を用いた術前導入化学放射線療法. 第 115 回日本外科学会定期学術集会, 名古屋国際会議場 (愛知県名古屋市), 2015/4/18

牧野崇, 秦美暢, 肥塚智, 大塚創, 磯部和順, 本間栄, 栃木直文, 渋谷和俊, 伊

伊豫田明: cT4 非小細胞肺癌に対する CBDCA/DOC を用いた術前導入化学放射線療法. 第 115 回日本外科学会定期学術集会, 名古屋国際会議場 (愛知県名古屋市), 2015/4/18

秦美暢, 大塚創, 牧野崇, 肥塚智, 笹本修一, 佐藤史朋, 田巻一義, 磯部和順, 鍋木教平, 本間栄, 栃木直文, 渋谷和俊, 伊豫田明: 区域切除術後の局所再発と再発時治療法に関する検討. 第 55 回日本肺癌学会学術集会, 国立京都国際会館 (京都府京都市), 2014/11/16

磯部和順, 秦美暢, 鍋木教平, 石田文昭, 菊池直, 廣田直, 佐藤敬太, 佐野剛, 杉野圭史, 坂本晋, 高井雄二郎, 栃木直文, 伊豫田明, 渋谷和俊, 本間栄: EGFR mutation 陽性肺腺癌における digital PCR を用いた治療前原発巣の T790M 定量化の試み. 第 52 回日本癌治療学会学術集会, パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市), 2014/8/29

Hata Y, Sakamoto S, Otsuka H, Sato K, Sato F, Makino T, Sugino K, Isobe K, Shiraga N, Tochigi N, Shibuya K, Homma S, Iyoda A. Complication related to EBUS-TBNA in patients with tuberculous lymphadenopathy. 18th World Congress for World Association for Bronchology and Interventional Pulmonology, Kyoto International conference center (Kyoto,Japan), 2014/4/14.

秦美暢, 大塚創, 牧野崇, 肥塚智, 佐藤史朋, 田巻一義, 笹本修一, 磯部和順, 大国生幸, 栃木直文, 伊豫田明: 病理病期 / 期の 80 歳以上超高齢者肺癌に対する外科療法の検討. 第 114 回日本外科学会定期学術集会, 国立京都国際会館(京都府京都市), 2014/4/3

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

- 出願状況 (計 0 件)
- 取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

東邦大学医療センター大森病院・呼吸器外科ホームページ
http://www.lab.toho-u.ac.jp/med/omori/resp_surgery/index.html

6. 研究組織

(1)研究代表者

秦美暢 (HATA, Yoshinobu)
東邦大学・医学部・准教授

研究者番号：90349910

(2)研究分担者

伊豫田 明 (IYODA, Akira)

東邦大学・医学部・教授

研究者番号：10302548

磯部 和順 (ISOBE, Kazutoshi)

東邦大学・医学部・講師

研究者番号：70385607

坂本 晋 (SAKAMOTO, Susumu)

東邦大学・医学部・准教授

研究者番号：20425440

大塚 創 (OTSUKA, Hajime)

東邦大学・医学部・助教

研究者番号：70408855

牧野 崇 (MAKINO, Takashi)

東邦大学・医学部・助教

研究者番号：30459797

(3)連携研究者

なし

(4)研究協力者

なし