

平成 30 年 6 月 18 日現在

機関番号：32661

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10272

研究課題名(和文) 肺癌に対する分子生物学的特性に基づいた個別化治療のシステム構築

研究課題名(英文) Personalized medicine by gene expression profiling in patients with primary resected lung cancer

研究代表者

伊豫田 明 (IYODA, Akira)

東邦大学・医学部・教授

研究者番号：10302548

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：2cm以下の肺腺癌に対し、肺葉切除術を施行した62症例を対象とし、病理組織標本で置換型・腺房型・乳頭型・微小乳頭型・充実型の各亜型成分の面積比率を測定し、CT所見と比較検討した。また、新たな進展様式であるtumor spread through air space(以下STAS)や微小乳頭型成分の有無と臨床病理学的因子との相関も検討した。結果は、病理組織標本では、腫瘍内部の構成成分に多様性がみられ、GG0と置換型成分は必ずしも一致せず、GG0比率100%であっても、置換型以外の浸潤成分を含む症例がみられた。また、GG0主体の病変でもSTASを認めた症例も存在した。

研究成果の概要(英文)：We retrospectively collected 62 cases that underwent lobectomy for small (less than 2 cm) lung adenocarcinomas. In the maximum split surface of the pathological tissue specimens, we measured the occupancy ratio of the following components: lepidic, acinar, papillary, micropapillary solid. We examined the correlations between histopathology and computed tomography findings. We investigated the characteristics of spread through air spaces and the micropapillary component. Most adenocarcinomas that we evaluated had 2 or more components, so lung adenocarcinoma is histologically heterogeneous. Ground glass opacity (GG0) on computed tomography is not necessarily a lepidic component in the pathological tissue specimen. Even in cases of pure GG0, there were cases with non-lepidic invasive components in the pathological tissue specimens. Even in the lesions with a high GG0 ratio, there was a case of tumor spread through air spaces.

研究分野：呼吸器外科学

キーワード：呼吸器外科 肺癌 個別化 治療 分子生物

## 1. 研究開始当初の背景

肺癌は癌の部位別死亡率で第一位であり、最も予後不良な悪性腫瘍である。その理由は、検診受診率の低下、Chronic obstructive pulmonary disease(COPD)や interstitial pulmonary fibrosis(IPF)などの低肺機能、糖尿病、循環器疾患などの併存疾患を有した肺癌の増加による根治切除率の低さにあることは明らかである。したがって、今後、肺癌の予後改善のためには、「いかにして根治性の高い治療を高い確率で導入できるか」が重要と思われる。肺癌に対する治療は、手術、放射線療法、化学療法が主体をなすが、手術療法が最も根治性が高い。近年、肺腺癌を中心として、High resolution CT の普及により小型の癌が見つかるようになってきており、肺癌手術症例が増加している。肺腺癌は肺癌切除症例中で約 60%を占めるもっとも頻度が高い組織型であり、分子標的薬についても EGFR-TKI、ALK 阻害剤、血管新生阻害剤など多くの種類の薬剤が使用可能である。また、免疫チェックポイント阻害薬も使用される場合がある。1995 年 Noguchi ら (Cancer 1995;75:2844-2852) は小型肺腺癌を TypeA から F の 6 タイプに分類した組織分類を検討し、予後との関連を報告した。具体的には、既存の肺胞構造が保たれ、腫瘍細胞が肺胞上皮置換性に増殖する TypeA、B の肺腺癌は完全切除後の 5 年生存率が 100%であることが示され、予後が極めて良い組織像として報告した。また、肺胞上皮置換性増殖は、High resolution CT 上で GGO に相当すると言われており、Matsuguma らは CT 上での GGO 比率、腫瘍径、縦隔条件でも消失しない充実性陰影を示す部位の最大径を比較し、GGO 比率が最も予後を予測するのに有用で GGO 比率が高いほど予後良好であると報告した(Ann Thorac surg 2013;95:1878-1884)。そして、TNM 病期分類が、2017 年 1 月 1 日より第 8 版へ改訂され、T 因子に関しては、腫瘍の内部の充実性成分の最大径により 1 cm 刻みに細分類されるようになり、CT での腫瘍全体の長さではなく、充実性成分の長さで分類されるようになった。

また、2015 年に改訂された WHO 分類 (第 4 版) では、Noguchi らが報告した腫瘍細胞が肺胞上皮置換性に増殖する TypeA、B の肺腺癌は上皮内癌と分類され、上皮内癌から浸潤癌になる前の癌は微小浸潤性腺癌と分類された。また、浸潤性腺癌は、5 つの組織亜型 (置換型・腺房型・乳頭型・微小乳頭型・充実型) の占める割合を 5%刻みで評価し、最も多い亜型が診断名とされた。置換型を低悪性度、乳頭型と腺房型を中間悪性度、微小乳頭型と充実型を高悪性度と分けた場合は、予後が明白になることが明らかになったが、乳頭

型を予後不良とする報告もある (J Clin Oncol 2012;30:1438-1446)。腺癌は、複数の亜型から成り立つことがあることも報告されており、微小乳頭型成分と充実型成分を 5%以下でも含むと予後不良との報告もみられ (Ann Surg Oncol 2016;23:2099-2105)、最も面積比率の高い亜型成分で単純に予後を評価することはできない。

肺癌に対する術式は、肺全摘、肺葉切除、区域切除、部分切除があり、現時点では肺葉以上の肺切除と肺門・縦隔リンパ節郭清術が標準術式となっているが、そのような背景の中で、小型肺腺癌に対して、GGO 比率をもとに、切除範囲の少ない区域切除や部分切除などの縮小手術が試みられている。本邦では全国的な試験として腫瘍径 2cm 以下、肺の外側 1/2 に位置し、CT で consolidation の比率が 25 ~ 100%の症例に対し、縮小手術である区域切除が肺葉切除と比較して生存率において非劣性であることを検討する前向き比較試験 (JCOG0802/WJOG4607L) が行われている。しかし、GGO 比率が高く予後良好と考えられた症例でも実際にはリンパ節転移を認めたり、再発・転移をきたす症例も経験される。GGO は、病理組織標本で肺胞上皮置換性増殖に相当するが、そのほか浸潤成分である乳頭型成分、腺房型成分に相当することもであると報告されている (J Thorac Imaging 2011;26:106-118)。最近では病理組織標本上で micropapillary pattern の混在や新たな腫瘍進展様式である tumor spread through air space の存在は予後不良因子であるとする報告も出てきており、単純に GGO 比率が高いことが予後良好因子とならない可能性が出てきている。以前より病理組織所見での micropapillary pattern は乳癌、卵巣癌、膀胱癌などで予後不良因子として認識され、肺癌においても 2013 年 Nitadori ら (J Natl Cancer Inst 2013;105:1212-20) は小型肺腺癌で micropapillary pattern を 5%以上含む症例に対する縮小手術では再発が有意に多かったと報告している。また、WHO 分類第 4 版では新たな腫瘍進展様式として tumor spread through air space (気腔内播種性進展) が追加された。主腫瘍の辺縁を越えて、肺実質肺胞腔内への腫瘍細胞の進展であり、肺胞腔 1 個以上の間隔をあけた腫瘍細胞の広がりがあれば tumor spread through air space と定義している。Kadota らは、tumor spread through air space は、2cm 以下の期肺腺癌の 38%に認められ、縮小切除例において再発の独立危険因子と報告している (J Thorac Oncol 2015;10:806-14)。現在のところ micropapillary pattern や tumor spread through air space に特徴的な CT 所見はなく、これらの構成成分に関していえば CT での正確な評価は困難と考えられる。

肺癌が再発した場合、治療は困難を極め、再手術は不可能な場合も多いことから、肺腺癌に対して予後と相関の高い評価方法が必

要と考えられる。予後予測システムを構築することにより、予後不良群を的確に診断し、それらに対してより根治性の高い適切な治療を施行することで予後が改善されれば患者にメリットとなる。また、予後不良群を的確に診断し、適切な治療を有効に無駄なく行えば患者だけでなく、医療経済にとっても大きなメリットとなり得る。

## 2. 研究の目的

小型肺腺癌において病理組織では、様々な成分（置換型・腺房型・乳頭型・微小乳頭型・充実型・特殊型の各亜型成分と fibrosis、壊死等）が混在しており、それぞれがどのような割合で認められるかを検討し、CT 所見との相関を検討する。また、新たな腫瘍進展様式である tumor spread through air space や微小乳頭型成分の有無に関して相関する臨床病理学的因子を明らかにする。また、PD-L1 の腫瘍内発現を検討し、病理組織学的検索と分子生物学的検索の両方からアプローチし、術前に予後を予測できるシステムを作成し、予後改善に寄与する基盤を構築する。

## 3. 研究の方法

(1) 病理組織標本上で各成分の面積比率、tumor spread through air space の有無の測定

バーチャルスライドで対象切除標本の最大断面のスライド（HE 染色、EVG 染色）をデジタルデータに変換し、腫瘍内部が置換型・腺房型・乳頭型・微小乳頭型・充実型・特殊型の各亜型成分や fibrosis、壊死のどの成分から構成されているか、tumor spread through air space の有無を検討し、フリーソフト Image J を用いて、各成分の面積比率を測定した。

(2) CT での GGO 比率、CT 値の測定

術前に行われた High resolution CT で腫瘍径が最大となるスライスでの GGO 比率を求め、更に GGO の CT 値を測定した。同一腫瘍内に濃度の違う GGO が複数存在する場合は、各部位の CT 値を求め、平均をその病変の CT 値とした。

(3) 病理組織学的所見と CT 所見の検討

CT での GGO 比率と病理組織における置換型成分の面積比率の相関を検討し、GGO100%の症例に関して、病理組織でどのような成分から構成されるかを検討し、CT 値で病理組織での構成する成分を予測できるかを検討した。

(4) tumor spread through air space ・微小乳頭型成分の有無と臨床病理学的因子の相関を検討

tumor spread through air space ・微小乳頭型成分の有無と、年齢・性別・喫煙歴・術後再発の有無・置換型・腺房型・乳頭型等の各亜型成分や fibrosis、壊死の面積比率等の臨床病理学的因子との相関を検討した。

(5) 腫瘍内 PD-L1 発現の検討

PD-L1 免疫染色を行い、腫瘍内のどの成分に

PD-L1 が発現するかを検討した。

## 4. 研究成果

(1) CT における GGO 比率と病理組織での置換型成分の面積比率は、必ずしも一致しなかった（図 1）。CT で GGO 比率 100%の病変が 14 例みられたが、病理組織標本で浸潤成分を含む症例が 7 例みられた。

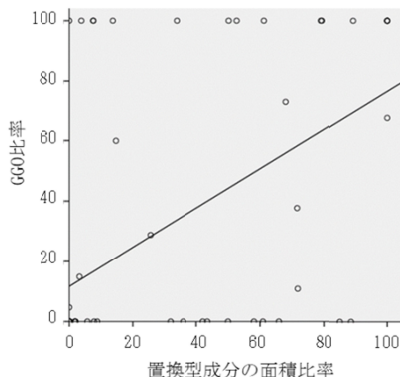
(2) CT で GGO100%の病変 14 例について検討したところ、GGO の CT 値に関して、置換型以外の浸潤成分を含む症例は置換型以外の浸潤成分を含まない症例と比較し GGO の CT 値は有意に高かった（図 2）。

(3) 微小乳頭型成分の存在する症例は、有意に乳頭型成分の面積比率が高かった。また、GGO 比率に有意な差は認めなかった。

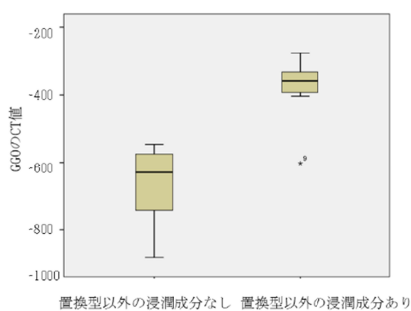
(4) tumor spread through air space が存在する症例は、GGO 比率が有意に低かったが、GGO 比率 100%でも tumor spread through air space を認めた症例も存在した。また、tumor spread through air space はリンパ節転移、リンパ管浸潤、脈管浸潤の有無と相関が認められた。

(5) 腫瘍内 PD-L1 発現を検討したところ、腫瘍内の複数の成分に発現が認められる症例がみられ、多様性が認められた。本症例は、乳頭型の腺癌（図 3）で乳頭型成分（図 4）と置換型成分（図 5）に発現がみられた。

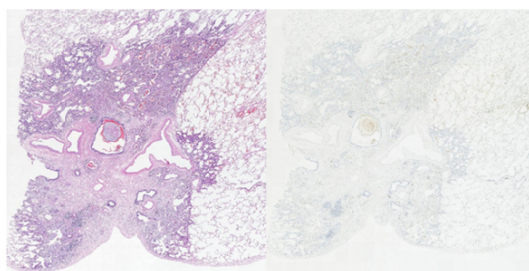
以上のことから肺腺癌は、多様な成分から構成されており、CT での GGO 成分は、病理組織で置換型成分に必ずしも一致しない。CT 値を考慮することで病理組織の構成成分を予測することが可能であった。GGO 成分を含む病変でも予後不良因子である tumor spread through air space を認める可能性があり、術式は慎重に検討する方が望ましいと考えられた。



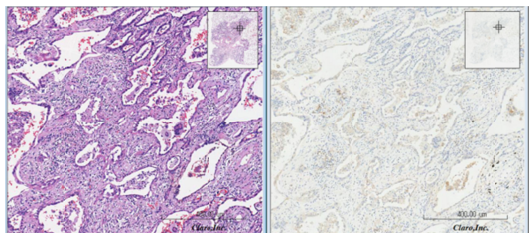
（図 1） GGO 比率と病理組織での置換型成分の面積比率の相関



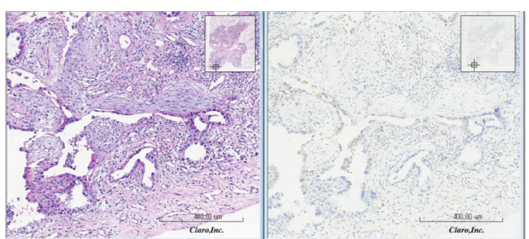
(図 2) 置換型以外の浸潤成分を含む症例と含まない症例とのGGOのCT値の比較



(図 3) 乳頭型腺癌で置換型・腺房型・乳頭型成分、fibrosis で構成されている



(図 4) 乳頭型成分に PD-L1 発現



(図 5) 置換型成分に PD-L1 発現

## 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 11 件)

Azuma Y, Iyoda A.

Results of treatment for catamenial pneumothorax since the introduction of

video-assisted thoracoscopic surgery: a systematic review. VIDEO-ASSISTED THORACIC SURGERY. 査読有, 2:71,2017. DOI:10.21037/vats.2017.10.01

Hata Y, Kiribayashi T, Kishi K, Nagashima M, Nakayama T, Ikeda S, Kadokura M, Ozeki Y, Otsuka H, Murakami Y, Takagi K, Iyoda A.

Adherence and feasibility of 2 treatment schedules of S-1 as adjuvant chemotherapy for patients with completely resected advanced lung cancer: a multicenter randomized controlled trial. BMC Cancer. 査読有, 17:581,2017.

DOI:10.1186/s12885-017-3584-y

Makino T, Hata Y, Otsuka H, Koezuka S, Kikuchi N, Isobe K, Tochigi N, Shibuya K, Homma S, Iyoda A.

Diffuse FDG uptake in bone marrow in patient with granulocyte colony-stimulating factor-producing pleomorphic carcinoma of the lung: a case report. Molecular and Clinical Oncology. 査読有, 7:103-106,2017.

DOI: 10.3892/mco.2017.1271

Makino T, Kawada K, Masuhara H, Hata Y, Otsuka H, Koezuka S, Tochigi N, Shibuya K, Watanabe Y, Iyoda A.

One-stage operation for thoracic aortic arch aneurysm and left lung carcinoma: a case report. Journal of Cardiothoracic Surgery. 査読有, 11:51,2016.

DOI:10.1186/s13019-016-0440-0

Makino T, Mikami T, Hata Y, Otsuka H, Koezuka S, Isobe K, Tochigi N, Shibuya K, Homma S, Iyoda A.

Comprehensive Biomarkers for Personalized Treatment in Pulmonary Large Cell Neuroendocrine Carcinoma: A comparative analysis with adenocarcinoma. The Annals of Thoracic Surgery. 査読有, 102:1694-1701,2016.

DOI:10.1016/j.athoracsur.2016.04.100

Hosaka T, Hata Y, Makino T, Otsuka H, Koezuka S, Azumi T, Ejima K, Tochigi N, Shibuya K, Iyoda A.

Mediastinal myelolipoma showing gradual enlargement over 9 years: a case report. Journal of Cardiothoracic Surgery. 査読有, 11:91,2016.

DOI 10.1186/s13019-016-0482-3

Matsumoto Y, Hata Y, Makino T, Koezuka S, Otsuka H, Sugino K, Isobe K, Homma S, Iyoda A.

The best time for surgery on a patient with recurrent pneumothorax and undetectable culprit lesions is at the exact time air leakage is discovered:

a case report. Journal of Cardiothoracic Surgery. 査読有, 11:114,2016.

DOI:10.1186/s13019-016-0514-z

Otsuka H, Sugino K, Hata Y, Makino T, Koezuka S, Isobe K, Tochigi N, Shibuya K, Homma S, Iyoda A.

Clinical features and outcomes of patients with lung cancer as well as combined pulmonary fibrosis and emphysema. Molecular and Clinical Oncology. 査読有, 5:3,273-278,2016.

DOI: 10.3892/mco.2016.954

Kameda T, Makino T, Sakai T, Koezuka S, Otsuka H, Hata Y, Tochigi N, Shibuya K, Iyoda A.

Asymptomatic costal exostosis with thickening in the pericardium: a case report. J Cardiothorac Surg. 査読有, 5;11:36,2016.

DOI: 10.1186/s13019-016-0431-1

Saito T, Makino T, Hata Y, Koezuka S, Otsuka H, Isobe K, Tochigi N, Shibuya K, Homma S, Iyoda A.

Giant thymoma successfully resected via anterolateral thoracotomy: a case report. J Cardiothorac Surg. 査読有, 1;10:110,2015.

DOI:10.1186/s13019-015-0321-y

Makino T, Hata Y, Otsuka H, Koezuka S, Okubo Y, Isobe K, Tochigi N, Shibuya K, Homma S, Iyoda A.

Simultaneous resection of bilateral anomalous systemic supply to the basal segments of the lungs: a case report. J Cardiothorac Surg. 査読有, 31;10:140,2015.

DOI: 10.1186/s13019-015-0366-y

〔学会発表〕(計20件)

東陽子、大塚創、肥塚智、牧野崇、秦美暢、伊豫田明：間質性肺炎合併肺癌における術後合併症予防。第79回臨床外科学会総会、2017

牧野崇、大塚創、肥塚智、東陽子、秦美暢、磯部和順、栃木直文、大国生幸、渋谷和俊、本間栄、海老原覚、伊豫田明：COPD合併肺癌における周術期LAMA/LABA吸入療法の有用性。第79回臨床外科学会総会、2017

Iyoda A, Azuma Y, Makino T, Otsuka H, Koezuka S, Tochigi N, Shibuya K, Mikami T, Isobe K, Homma S:Surgical Treatment for Neuroendocrine Tumors other than SCLC. 18th World Conference on Lung Cancer, 2017

Makino T, Mikami T, Hata Y, Otsuka H, Koezuka S, Azuma Y, Isobe K, Tochigi N, Shibuya K, Homma S, Iyoda A:

Prediction of Potential Biomarkers for Personalized Treatment in Pulmonary Large-Cell Neuroendocrine Carcinoma. 18th World Conference on Lung Cancer, 2017

Azuma Y, Otsuka H, Makino T, Koezuka S, Isobe K, Sakamoto S, Tochigi N, Shibuya K, Homma S, Iyoda A: Surgery for Patients with Lung Cancer Associated with Interstitial Pneumonia. 18th World Conference on Lung Cancer, 2017

東陽子、大塚創、牧野崇、秦美暢、肥塚智、伊豫田明：間質性肺炎合併肺癌手術の工夫。第70回日本胸部外科学会定期学術集会、2017

肥塚智、牧野崇、大塚創、東陽子、秦美暢、大国生幸、海老原覚、伊豫田明：周術期LABA/LAMA吸入療法とリハビリテーションを行ったCOPD合併肺癌症例の検討。第111回臨床呼吸生理研究会学術集会、2017

大塚創、牧野崇、肥塚智、安積隆、秦美暢、伊豫田明：当院における間質性肺炎合併肺癌に対する胸腔鏡補助下手術。第34回日本呼吸器外科学会総会、2017  
牧野崇、三上哲夫、栃木直文、秦美暢、肥塚智、安積隆、大塚創、杉野圭史、磯部和順、本間栄、渋谷和俊、伊豫田明：個別化医療を目指した肺大細胞神経内分泌癌切除例におけるバイオマーカー発現の検討。第117回日本外科学会定期学術集会、2017

牧野崇、三上哲夫、栃木直文、秦美暢、肥塚智、安積隆、大塚創、杉野圭史、磯部和順、本間栄、渋谷和俊、伊豫田明：肺大細胞神経内分泌癌切除例におけるSSTRの発現の検討-免疫組織化学染色を用いた肺腺癌との比較検討-。第57回日本肺癌学会総会、2016

肥塚智、大塚創、牧野崇、安積隆、秦美暢、伊豫田明：原発性肺癌に対する肺全摘術の手術成績について。第78回日本臨床外科学会総会、2016

大塚創、牧野崇、肥塚智、安積隆、秦美暢、伊豫田明：当院における間質性肺炎合併肺癌に対する胸腔鏡下手術。第78回日本臨床外科学会総会、2016

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、2016

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：肺大細胞神経内分泌癌切除例におけるTopoisomerase-IIの発現の検討。第33回日本呼吸器外科学会総会、2016

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、澁谷和俊、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腺癌との比較検討-。第 56 回日本肺癌学会学術集会、2015

磯部和順、秦美暢、栃木直文、佐野剛、杉野圭史、坂本晋、高井雄二郎、伊豫田明、三上哲夫、本間栄：EGFR 遺伝子変異陽性肺腺癌における BIM 遺伝子多型と原発巣の BIM 蛋白発現の関連性の検討。第 56 回日本肺癌学会学術集会、2015

Isobe K, Hata Y, Tochigi N, Kakimoto A, Mikami T, Kaburaki K, Makino T, Otsuka H, Sano G, Sugino K, Sakamoto S, Takai Y, Shibuya K, Iyoda A, Homma S: BIM deletion polymorphism is not associated with BIM RNA expression or BIM immunohistochemistry intensity in epidermal growth factor receptor mutation-positive non-small cell lung cancer. 50th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology, 2015

牧野崇、秦美暢、肥塚智、大塚創、磯部和順、本間栄、栃木直文、澁谷和俊、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、2015

秦美暢、大塚創、牧野崇、肥塚智、磯部和順、本間栄、栃木直文、澁谷和俊、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、2015

肥塚智、秦美暢、大塚創、牧野崇、栃木直文、澁谷和俊、伊豫田明：肺癌術後 5 年以上経過後の第二癌手術例に対する検討。第 115 回日本外科学会定期学術集会、2015

〔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〕

ホームページ等

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](http://www.lab.toho-u.ac.jp/med/omori/resp_surgery/index.html)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

伊豫田 明 (IYODA, Akira)  
東邦大学・医学部・教授  
研究者番号：10302548

### (2) 研究分担者

肥塚 智 (KOEZUKA, Satoshi)  
東邦大学・医学部・助教  
研究者番号：10749378

牧野 崇 (MAKINO, Takashi)  
東邦大学・医学部・助教  
研究者番号：30459797

大塚 創 (OTSUKA, Hajime)  
東邦大学・医学部・助教  
研究者番号：70408855

秦 美暢 (HATA, Yoshinobu)  
東邦大学・医学部・准教授  
研究者番号：90349910

### (3) 連携研究者 なし

### (4) 研究協力者 なし