

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 3 日現在

機関番号：17301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2013～2014

課題番号：25893179

研究課題名(和文) Bevacizumabuの治療反応予測因子のスパイラルアレイを用いた探索

研究課題名(英文) Searching for predictive marker of therapeutic effect by Bevacizumabu using Spiral Array

研究代表者

田畑 和宏 (TABATA, Kazuhiro)

長崎大学・病院(医学系)・助教

研究者番号：80419655

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：事前研究として、スパイラルアレイによる免疫組織化学検査の有用性を確認するべく、富山大学病院で作成された肺癌手術症例のスパイラルアレイを用いた検討を行った結果、Ki-67の発現率が10%以上の症例で予後との有意な相関を示した。この結果より、スパイラルアレイを用いた予後因子の探索が有用である事を示した。本研究開始に当たり、実際の症例抽出は困難であったため、対象を生検検体から手術検体に変更して研究を継続した。現在、症例抽出とSpiral arrayブロック作成が進行中である。今後、症例抽出とSpiral arrayブロック作成の完了時点で免疫組織化学検査による予測因子の探索を行う予定である。

研究成果の概要(英文)：In preliminary study, we used constructed spiral array with resected lung cancer in Toyama University Hospital. As a result, the cases with high ratio of Ki-67 have significant correlation with prognosis, and this proved availability of spiral array. At the time of starting study, the case extraction was very difficult when it was based on the first standard for case extraction. We decided to change the candidate to surgical specimen from biopsy sample and continue this study. We have started making a selection of case and building up Spiral array block and it is in progress. It's expected to perform the immunohistochemical staining for searching predictive marker of therapeutic effect by Bevacizumab, when it is completed case extraction and Spiral array block making.

研究分野：人体病理学

キーワード：肺癌 Spiral Array

### 1. 研究開始当初の背景

Bevacizumab は、血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) に対するモノクローナル抗体であり、血管新生を抑え、腫瘍の増殖や転移を抑えたりする作用を持つ。近年、大腸癌や肺腺癌において、標準治療として使用される分子標的治療薬であるが、臨床応用された

Bevacizumab の治療反応性予測因子はない (Dipen et al., Cancer Research 2013)。また、ゲノムシーケンスによる SNP などの遺伝子の面からの探索が行われているが、有効なものは見つかっていない (Bryan et al., Lancet Oncology 2012)。現在まで行われてきた多くの研究は、血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) や血管内皮に焦点が当てられている。その一方で、間質/Fibroblast と血管新生の関係に焦点を当てた報告はまだ少ない。

また、多くの血管新生の研究はマウスモデルを用いて行われてきたが、近年、ゼノグラフトマウスモデルにおいては、免疫不全状態のためにサイトカインの分泌が修飾され、血管新生のモデルとしての限界を示す報告も見られ、ヒト組織での検討の必要性が指摘されている (Gehmert et al., Clinical Hemorheology and Microcirculation 2011)。

ヒト肺腺癌において、間質/Fibroblast に発現するタンパクにおける Bevacizumab の治療反応性を調べたものは、ほとんど見られない。

### 2. 研究の目的

肺腺癌の経気管支肺生検組織を用いて、後方視的に、Bevacizumab の治療反応予測因子の探索を行う。

### 3. 研究の方法

#### (1) 症例の選定

2009 年から 2013 年の期間に長崎大学病院にて、経気管支鏡肺生検を施行された患者のうち、肺腺癌と診断され、その後、Carboplatin、Paclitaxel に Bevacizumab が併用された症例を、長崎大学病院病理アーカイブより選定する。症例集積の目標は 150 例とする。

長崎大学病院の病理アーカイブより、選定した症例のスライドガラスを取り出し、光学顕微鏡にて採取されている腫瘍細胞量、間質の有無、組織型のチェックを行い、不適なものは除外する。

症例の選定は研究代表者と研究補佐員が行う。

#### (2) 臨床情報の収集

収集する臨床情報を以下に記す。

年齢、性別、既往歴、喫煙歴、Clinical stage、Pathological stage、組織型、分化度、治療レジメン、治療効果判定、予後 (OS, PFS) 治療効果判定は治療開始後 3 ヶ月、6 か月の CT にて CR、PR、PD を評価する。その後、連結不可能匿名化を行い、以下のプロセスを行う。

匿名化は研究補佐員が行う。

#### (3) スパイラルアレイの作製

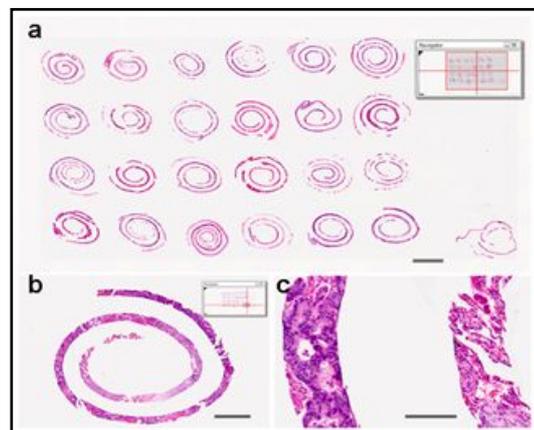


図: スパイラルアレイサンプル

パラフィンブロックを取り出し、100  $\mu\text{m}$  にて薄切を行う。その薄切したパラフィンによりスパイラルアレイを作製する (Fukuoka et

al., Arch Pathol Lab Med. 2012)。図に示したのはスパイラルアレイのサンプルである。(a)スパイラルアレイの弱拡大像。(b)中拡大像、(c)鏡拡大像  
スパイラルアレイの作製は、研究補佐員が行う。

#### 4. 研究成果

事前研究として、スパイラルアレイによる免疫組織化学検査の有用性を確認するべく、富山大学病院で作成された肺癌手術症例のスパイラルアレイを用いた検討を行った。

【対象/方法】富山大学病院における原発性肺癌手術例 100 例を用いて作成したスパイラルアレイを用いて Ki-67 の免疫組織化学検査を施行。それぞれのコアで Ki-67 の陽性率を算出し、予後情報を含む臨床情報との解析を行った。

【結果】コアの消失や臨床情報が獲得できた 74 症例において検討した結果、Ki-67 の発現率が高い(陽性率>10%)症例で予後との有意な相関を示した。

この結果により、スパイラルアレイを用いた研究デザインが有用である事を証明し、本研究に望んだものの、研究対象となる症例の抽出に極めて難渋した。まず、手術不適用例を本研究の対象としており、治療条件を満たす症例の経気管支鏡肺生検検体を再鏡検したところ、組織量としてスパイラルアレイ作成に不適な検体が多数を示し、予定症例数に大きく満たなかった。これは、近年、生検が超音波気管支鏡下に行われることが多く、検体量が微小になったことが大きく影響している。研究遂行のためには、前向き研究へと変更し、治療介入する必要性も考えたが、患者が不利益を被る可能性も否定できないため断念した。対象症例の集積を 2013 年から 2014 年に延長したが、九州国際重粒子線がん治療センターが 2013 年 8 月に開院した結果、重

粒子線治療を希望する患者の増加により、対象症例はほとんど増加しなかった。そこで対象を生検検体から手術検体に変更して研究を継続することとした。現在、症例抽出と Spiral array ブロック作成に着手しており、進行中である。今後、症例抽出と Spiral array ブロック作成を継続し、完了した時点で免疫組織化学検査による予測因子の探索を行う予定である。

#### 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)

1. Tabata K, Tanaka T, Hayashi T, Hori T, Nunomura S, Yonezawa S, Fukuoka J, Ki-67 is a strong prognostic marker of non-small cell lung cancer when tissue heterogeneity is considered, 査読有, BMC Clin Pathol. 2014 May 13;14:23. doi:10.1186/1472-6890-14-23.

〔学会発表〕(計 0 件)

〔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：  
出願年月日：  
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

田畑 和宏 (TABATA, Kazuhiro)

長崎大学・病院(医学系)・助教

研究者番号：80419655