

た基準は腫瘍細胞が脈管壁を破壊しているあるいは更に脈管腔に進展しているものとした。その後 EvG 染色を観察して v の有無を判定、同様に D2-40 染色で ly を判定した。いずれも対物レンズ 10 倍で全面を観察し、疑わしい場合は最大 40 倍まで倍率を上げて観察した。2 名の医師がそれぞれ別々に鏡検し、結果が異なった症例はその後 2 名で討論の上、一致させた。胸膜浸潤の有無は HE 染色で露出あるいは EvG 染色で胸膜弾性板を越えるか否かで判定した。

#### 2) 脈管侵襲数の評価

3 cm以下の肺癌で EvG 染色、D2-40 染色で脈管浸潤ありと診断した症例において、浸潤血管、浸潤リンパ管の数をそれぞれ数えた。

1)と同様に対物レンズ 10 倍で全面を観察し、疑わし場合は最大 40 倍まで倍率を上げて観察した。2 名の医師がそれぞれ別々に鏡検し、結果が異なった症例はその後 2 名で討論の上、一致させた。

#### 3) 脈管侵襲と Stage IA、IB との関連

IA 期と PL1/PL2 による IB 期の 335 例に腫瘍径 3 cmから 5 cm以下の IB 期 132 例を加えた 467 例の NSCLC を対象とした。病理腫瘍径 3cm 以上の IB 期症例でも 335 例の症例と同様の方法で EvG 染色で v の有無と数を、D2-40 染色で ly の有無と数を観察した。

IA 期、IB 期をそれぞれ脈管浸潤

の有無あるいは数で分類して比較した。

#### 4) 観察期間、統計分析

すべての検討において、観察期間は再発症例では手術日から再発日までとし、無再発症例では最終無再発確認日までとした。再発日は画像上再発が確認された時点とした。統計学的検討は SPSS を使用した。生存率は Kaplan-Meier 法にて検討し、log-rank 検定を使用した。さらに多変量解析では Cox proportional-hazards モデルを使用した。P 値は 0.05 未満をもって有意差ありとした。

#### (倫理面への配慮)

本研究のプロトコールは施設の IRB 及び医療機関の長の承認を得た上で、実施した。

なお、本試験に関係するすべての研究者は、ヘルシンキ宣言及び臨床研究に関する倫理指針に従って本試験を実施する。

#### C. 研究結果

1) 脈管侵襲の客観的判定の検討  
HE 染色のみで v (+) とした症例は 30 例であり、うち 2 例は EvG 染色では v (-) であった(偽陽性)。HE 染色で v (-) の 305 例のうち 33 例が EvG 染色を追加することで新たに v が確認できた(偽陰性)。

同様に HE 染色で ly (+) とした 15 例のうち 3 例は D2-40 染色では ly (-) であった。一方 HE 染

色で ly (-) であった 320 例のうち 39 例が D2-40 染色の追加で新たに ly を確認できた。

v においては HE 染色のみでは 33 例を見落とし、2 例が過剰に診断していた。感度は 46.0% であり、特異度は 99.3% であった。同様に ly においては ly のあった 51 例中 39 例が HE 染色では認識できておらず、感度 23.5%、特異度 98.9% であった。

HE 染色のみで v を判定した場合、単変量解析で有意差を認め ( $p < 0.0001$ )、多変量解析でも有意差を認めた ( $p = 0.002/HR 3.945$ )。同様に、ly において HE 染色のみでは単変量解析で有意差を認めなかった ( $p = 0.1005$ )。v では EvG 染色を追加すること、ly では D2-40 染色を追加することともに多変量解析でも有意差が出る結果となった。(v :  $p = 0.001/HR = 4.250$ 、ly :  $p = 0.022/HR = 2.568$ )。

## 2) 脈管浸潤数での評価

335 例を脈管浸潤の数で分類した。EvG 染色、D2-40 染色を使用し判定した結果を使用し、血管とリンパ管に分けて検討した。

v の数ごとに 0vs1vs2 以上とすると 1vs2 では有意差を認める ( $p = 0.0131$ ) もの、0vs1 では有意差を認めなかった ( $p = 0.3673$ )。

同様に ly も数ごとに分類し評価した。0vs1vs2 以上とすると 0vs1 で有意差を認めた ( $p = 0.0009$ )。1vs2 においては有意差が認められない

だけでなく生存曲線が逆転した。

## 3) 脈管侵襲 (IVI) と Stage IA、IB との関連

IA 期を IVI(+) (IA(+) 群) と IVI(-) (IA(-) 群) に分け、同時期に手術された IB 期症例 168 例 (3 cm 以下 PL+ での IB 期症例も含む) (IB 群) と比較した。

IA(+) と IB は有意差がなく ( $p = 0.8848$ )、IA(-) とはいずれも有意差を認めた ( $p < 0.00001$ ) (Figure 5)。

さらに IB 期症例も同様に IB(+) 群と IB(-) 群に分け比較した。IB(+) と IB(-) を比較すると有意差を認めた ( $P = 0.0004$ )。また IA(+) と IB(-) では統計学的有意差は認めなかった ( $p = 0.1309$ ) もの、IB(-) の生存曲線の方がよい結果となった。5 年無再発生存率は IA(-) 97.9%、IA(+) 79.7%、IB 全体で 81.3%、IB(-) 89.9%、IB(+) 67.7% であった。

## D. 考察

HE 染色で偽陰性となりやすいものとしては、管腔の既存構造が破壊されていて HE 染色のみでは脈管の認識が難しい症例や、管腔壁と腫瘍細胞との空隙が少ない症例、また充実成分が腫瘍の主体のため腫瘍細胞が非常に密で管腔の認識が難しい症例があげられる。また逆に HE 染色で偽陽性となった理由は、線維化が進み肥厚の著明な肺胞壁の腫瘍が血管と誤認しやすかったことや、標本作成のアーチ

ファクトでできた空隙に腫瘍細胞が存在することなどがあげられる。また、HE 染色のみで脈管浸潤を判定することは観察者の技術にも多分に左右されると考えられる。1人の観察者だけではなく複数の観察者で診断することで正確性は増すが、熟練した医師のみでなく多くの観察者が容易に判定できるようになる EvG 染色や D2-40 染色を追加することはより正確に診断し、再発因子を評価するうえでも非常に重要であると考えられる。

IA 期・脈管侵襲陽性例と IB 期・脈管侵襲陰性例では統計学上は有意差がなかったものの、IA 期・脈管侵襲陽性群の予後は IB 期・脈管侵襲陰性より悪い傾向があった。現在 IB 期では術後化学療法が標準的治療として推奨されている現状を考えると、IA・脈管侵襲陽性例に対して術後補助治療を行うことで予後改善が期待できる可能性も示唆された。

#### E. 結論

脈管侵襲の診断は、HE 染色のみでは不十分であり特殊染色や免疫染色を加えることでより客観性が増すものと考えられる。また、病理病期 IA 期でも高再発予後因子であり、また脈管侵襲陽性 IA 期 NSCLC は、IB 期同等に再発しやすい。今後、脈管侵襲陽性 IA 期に対するは術後補助療法の検討が必要である。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

本研究に関する論文は、現在作成中である。

##### 2. 学会発表

本研究は、「Venous invasion as an unfavorable prognosis in Stage 1a lung cancer patients」のタイトルで、2011 年 11 月日本肺癌学会総会（大阪）ならびに 2012 年 5 月日本呼吸器外科学会総会（秋田）で発表した。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況（予定含む）

1. 特許取得；なし

2. 実用新案登録；なし

3. その他

特記すべき事項なし。

厚生労働科学研究費補助金（難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業）  
分担研究報告書

肺癌術後補助療法における選別因子に関する研究

研究分担者 池田 徳彦 東京医科大学 外科学第一講座 主任教授

研究要旨：肺癌術後補助療法で利益を得る症例を選別するための因子を検討した。Klotho 遺伝子は小細胞肺癌や大細胞神経内分泌癌(LCNEC)の予後因子として知られているが、各種抗がん剤感受性とも関連があるとされる。その一因として、培養細胞におけるアポトーシス誘導能を検討した。Klotho 遺伝子の一過性過剰発現によりシスプラチン、ドセタキセルによるアポトーシス誘導能が亢進し、感受性因子であることが明らかになった。この結果、Klotho 発現の有無は肺癌術後補助療法を選択する際の選別因子としての可能性が示唆された。

- A. 研究目的：アンチエイジング遺伝子 Klotho 遺伝子の欠失は、肺気腫、動脈硬化の促進、寿命の短縮などの原因になることが報告され、乳癌では「腫瘍抑性遺伝子」としての機能を有することが報告された。我々は、アンチエイジング遺伝子である Klotho 発現と肺癌との関係について注目し、肺癌の中で特に予後不良である小細胞肺癌(SCLC)や大細胞神経内分泌癌(LCNEC)において Klotho 遺伝子が予後因子であることを報告してきた (Lung Cancer 2011; 74: 332-337)。本研究のように術後補助療法として、免疫療法単独、あるいは化学療法との併用療法を確立するためには、効果予測因子、バイオマーカーなどによる層別化が必要である。そこで、我々は Klotho 発現が化学療法の効果予測因子、感受性因子になりうるか明らかにすることを目的とした。
- B. 研究方法：肺癌細胞株 A549、乳癌細胞株 MCF-7c3(caspase-3 遺伝子導入)に Klotho プラスミド遺伝子+GFP 遺伝子を co-transfection し、その後各種抗がん剤を IC50 の濃度で処理した。シスプラチン、ドセタキセル、エトポシド、パクリタキセル、ペメトレキセド、ジェムザール、イリノテカン、ゲフィチニブなど肺癌治療に使用される薬剤を使用した。薬剤処理し8時間後に蛍光顕微鏡によりアポトーシス誘導された細胞をカウントし、Klotho 過剰発現とアポトーシス誘導能について検討した。
- C. 研究結果：Klotho 遺伝子過剰発現させるとシスプラチン、ドセタキセルによるアポトーシス誘導能が統計学的に有意差を持って高いことが明らかになった。すなわち、Klotho 遺伝子は、シスプラチン、ドセタキセルの感受性因子であることが明らかになった。一方、Klotho 発現と、エトポシド、パクリタキセル、ペメトレキセド、ジェムザール、イリノテカン、ゲフィチニブの感受性との間には相関関係をみとめなかった。
- D. 考察:将来的に肺癌術後補助療法として免疫療法+化学療法を施行する上で、

Klotho 発現をみとめる症例に対しては、シスプラチンやドセタキセルを使用した補助療法が期待される。一方、発現陰性症例に対しては免疫療法を主体とした治療に期待が寄せられる。今後、手術検体における Klotho 発現と化学療法の効果について検討し、Klotho 発現の効果予測因子としての意義について解析することが必要である。

E. 結論 : Klotho 発現は、シスプラチン、ドセタキセルの感受性因子であり、術後補助療法の層別化に貢献する因子である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1)Usuda J, Ichinose S, Ishizumi T, Ohtani K, Inoue T, Saji H, Kakihana M, Kajiwara N, Uchida O, Nomura M, Tsutsui H, Ohira T, Ikeda N. Klotho is a novel biomarker for good survival in resected large cell neuroendocrine carcinoma of the lung. *Lung Cancer*.72(3): 355-359:2011.

2)Imamura F, Nishio M, Noro R, Tsuboi M, Ikeda N, Inoue A, Ohsaki Y, Kimura Y, Nishino K, Uchida J, Horai T.Randomized Phase II Study of Two Schedules of Carboplatin and Gemcitabine for Stage IIIB and IV Advanced Non-Small Cell Lung Cancer (JACCRO LC-01 Study).*Chemotherapy* .57(4):

357-362, 2011

3)Nomura M, Fukuda T, Fujii K, Kawamura T, Tojo H, Kihara M, Bando Y, Gazdar AF, Tsuboi M, Oshiro H, Nagao T, Ohira T, Ikeda N, Gotoh N, Kato H, Marko-Varga G, Nishimura T.Preferential expression of potential markers for cancer stem cells in large cell neuroendocrine carcinoma of the lung. An FFPE proteomic study.*J ClinBioinforma*.1(1): 23, 2011

4)Saji H, Tsuboi M, Yoshida K, Kato Y, Nomura M, Matsubayashi J, Nagao T, Kakihana M, Usuda J, Kajiwara N, Ohira T, Ikeda N.Prognostic Impact of Number of Resected and Involved Lymph Nodes at Complete Resection on Survival in Non-small Cell Lung Cancer.*J ThoracOncol*.6(11): 1865-1871, 2011

5)Usuda J, Ichinose S, Ishizumi T, Ohtani K, Inoue T, Saji H, Kakihana M, Kajiwara N, Uchida O, Nomura M, Ohira T, Ikeda N.Klotho predicts good clinical outcome in patients with limited-disease small cell lung cancer who received surgery.*Lung Cancer* .74(2): 332-337, 2011

6)Ikeda N,Usuda J, Kato H, Ishizumi T, Ichinose S, Otani K,

Honda H, Furukawa K, Okunaka T, Tsutsui H. New Aspects of Photodynamic Therapy for Central Type Early Stage Lung Cancer. *Lasers in Surgery and Medicine* .43(7): 749-754, 2011

## 2. 学会発表

- 1) 非小細胞肺癌における原発巣部位と予後の関係～左下葉は予後不良因子か？、第 28 回日本呼吸器外科学会総会 (2011.5.12) 別府
- 2) 肺がん新 TNM 分類 (UICC ver.7) の N 因子・リンパ節マップにおける問題点と方向性：解剖学的位置 vs 転移個数、第 111 回日本外科学会定期学術集会 (紙上開催)
- 3) TMN 分類第 7 版における非小細胞肺癌の胸部浸潤と予後の検討、第 111 回日本外科学会定期学術集会 (紙上開催)
- 4) 小型末梢肺癌に対する新たな低侵襲治療法の開発、第 111 回日本外科学会定期学術集会 (紙上開催)
- 5) 原発性肺癌全摘術後における長期的な予後の評価、第 111 回日本外科学会定期学術集会 (紙上開催)
- 6) 肺癌診療 2011: 低侵襲と個別化、第 117 回日本結核病学会東海地方学会・第 99 回日本呼吸器学会東海地方学会 (2011.6.26) 名古屋
- 7) TNM 分類第 7 版における胸膜浸潤と予後の検討、第 64 回日本胸部外科学会定期学術集会 (2011.10.11) 名古屋

- 8) pT1b (T1>2cm)N0M0 非小細胞肺癌完全切除術における予後因子と再発予測因子の検討、第 64 回日本胸部外科学会定期学術集会 (2011.10.11) 名古屋
- 9) アンチエイジング遺伝子 Klotho 発現と神経内分泌肺癌の予後との関係、第 64 回日本胸部外科学会定期学術集会 (2011.10.12) 名古屋
- 10) 未治療進行小細胞肺癌に対する CBDCA/S-1 と CBDCA/PAC との第Ⅲ相試験 (WJTOG3605)、第 49 回日本癌治療学会学術集会 (2011.10.27) 名古屋
- 11) 呼吸器外科領域のロボット手術、第 103 回 ACCP 日本部会定期学術教育講演会 (2011.10.29) 大阪
- 12) 神経内分泌肺癌における Klotho 発現と予後との関係、第 52 回日本肺癌学会総会 (2011.11.3) 大阪
- 13) 肺癌手術症例における術前縦隔 N 因子診断の成績、第 52 回日本肺癌学会総会 (2011.11.3) 大阪
- 14) 下葉原発非小細胞肺癌における上縦隔リンパ節郭清省略についての検討、第 52 回日本肺癌学会総会 (2011.11.3) 大阪
- 15) 非小細胞肺癌の術後再発時期における再発因子の検討、第 52 回日本肺癌学会総会 (2011.11.4) 大阪
- 16) I、II 期非小細胞肺癌に対する外科療法、第 52 回日本肺癌学会総会 (2011.11.4) 大阪

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定含む）

なし

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業）  
分担研究報告書

肺癌に対する WT1 ペプチド免疫療法の開発に関する研究

研究分担者 鈴木 健司 順天堂大学医学部附属順天堂医院 呼吸器外科 教授

研究要旨

肺癌は年々増加しており、難治がんであり、この肺癌の治癒率を向上させるためには、手術、化学療法、放射線療法などの既存の治療法とは作用機序が大きく異なる治療法の開発が必須である。本研究は、肺癌術後補助療法としての WT1 ペプチド免疫療法の有用性をランダム化第Ⅱ相試験で評価すると共に、臨床第Ⅲ相試験（治験）の実施の可能性の検討を目的とする。その一端として肺癌手術患者より摘出した組織の解析を遺伝子レベルで行った。

A. 研究目的

完全切除された非小細胞肺癌の症例を対象に、WT1 ペプチドワクチン療法の有用性を、プラセボ投与と比較する盲検的ランダム化第Ⅱ相臨床試験により、術後補助免疫療法としての WT1 ペプチドワクチン療法の非小細胞肺癌に対する術後再発予防効果を検討する。肺癌の原因遺伝子は、EGFRをはじめいくつかの原因遺伝子が確認されている。遺伝子変異は肺癌に対する個別化治療の指標として重要な要因と考えられ、WT1 ペプチドワクチン療法の有用性の検討に貢献できる。

B. 研究方法

外部委託により、肺癌切除検体を用いた EGFR、KRAS、ALK の変異の有無の検索を行う。EGFR 及び KRAS は肺癌の分子標的治療の指標となる重要な遺伝子である。更に、そのほかの遺伝子（BRAF、PIK3、HER2 など）に関してシーケンズを行い変異の解析を行う。

（倫理面への配慮）

参加患者の安全性確保については、適格条件やプロトコル治療の中止変更規準を厳しく設けており、試験参加による不利益は最小化される。また、「臨床研究に関する倫理指針」およびヘルシンキ宣言な

どの国際的倫理原則を遵守する。

C. 研究結果

現時点で多くの研究報告がされており EGFR 及び KRAS は肺癌の分子標的治療の指標となる重要な遺伝子であり、遺伝子の変異に伴い効果的な投与薬があることが知られている。

今回解析を行ったのは手術の際に採取された 240 検体。そのうち、変異の大半を占める EGFR、K-RAS 以外の遺伝子で ALK 変異は約 2%、PIK3 で約 3%、BRAF で約 2%であった。

D. 考察

免疫療法は、第 4 の治療法として期待が高まってきている。免疫療法は、既存の治療法とは、殺細胞機序が異なり、他の治療法では不可能と考えられる静止期癌幹細胞を死滅させうるができるので、免疫療法は、本来的には癌を完治させうるポテンシャルをもった治療法と考えられる。2001 年からトランスレーショナルリサーチを行い、WT1 ペプチド免疫療法を 500 人以上の末期がん患者に実施し、本療法は、重篤な副作用を起こさず、末期癌に対して臨床効果を発揮しうる治療法であることを明らかにしてきた。これらの実績から、難治性の高い肺癌に対しても臨床



効果が期待されるものと考え、本研究が立案、計画された。本研究は、厚生労働省の「健康長寿社会実現のためのライフ・イノベーションプロジェクト」の施策に合致するとともに、医師主導治験あるいは企業治験を経て、日本発の WT1 ペプチドワクチンの製薬化につながると思われる、厚生労働行政に大きく貢献するものと考えられる。

E. 結論

今後、本格的に登録を開始し、WT1 ペプチド免疫療法の効果と遺伝子変異の有無を比較し、変異遺伝子に伴った効果が得られるのか、遺伝子に影響されず同等の効果が得られるのか検討を行う。前者である場合、より効果の高い患者への選択的治療となり、後者である場合、治療方法の限られる患者への有効的な治療方法となるため、結論はどちらであっても、今後の治療選択に効果的な資料となりうると思われる。

F. 研究発表  
論文発表

1. Suzuki, K., Koike, T., Asakawa, T., Kusumoto, M., Asamura, H., Nagai, K., Tada, H., Mitsudomi, T., Tsuboi, M., Shibata, T., Fukuda, H., Kato, H. A prospective radiological study of thin-section computed tomography to predict pathological non-invasiveness in peripheral clinical IA lung cancer (JCOG0201). *J Thorac Oncol* 2011;6:751-756.
2. Miyasaka, Y., Oh, S., Takahashi, N., Takamochi, K., Suzuki, K. Postoperative complications and respiratory function following segmentectomy of the lung - comparison of the methods of making an inter-segmental plane. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2011 Mar;12(3):426-9.
3. Takamochi, K., Oh, S., Matsuoka, J., Suzuki, K. Clonality status of

multifocal lung adenocarcinomas based on the mutation patterns of *EGFR* and *K-ras*. *Lung Cancer.* 2012 75(3):313-20

4. Takahashi, N., Suzuki, K., Takamochi, K., Oh, S. Prognosis of surgically resected lung cancer with extremely high preoperative serum carcinoembryonic antigen level. *Gen Thorac Cardiovasc Surg.*2011;59(10)699-704
5. Takamochi, K., Oh, S., Matsuoka, J., Suzuki, K. Risk factors for morbidity after pulmonary resection for lung cancer in younger and elderly patients. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.*2011(5):739-743
6. Kozu, Y., Tsuta, K., Kohno, T., Sekine, I., Yoshida, A., Watanabe, S., Tamura, T., Yokota, J., Suzuki, K., Asamura H, Furuta K, Tsuda H. The usefulness of mutation-specific antibodies in detecting epidermal growth factor receptor mutations and in predicting response to tyrosine kinase inhibitor therapy in lung adenocarcinoma. *Lung Cancer.*2011.73(1)45-50
7. Ichinokawa, H., Ishii, G., Nagai, K., Yoshida, J., Nishimura, M., Hishida, T., Suzuki, K., Ochiai, A. Clinicopathological characteristics of primary lung adenocarcinoma predominantly composed of goblet cells in surgically resected cases.2011.61(7)423-429

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定含む）

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

肺癌における oncogenic driver mutation の研究

研究分担者 愛知県がんセンター中央病院 呼吸器外科部医長 伊藤志門

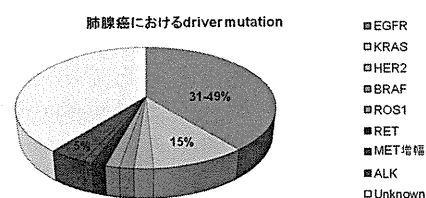
研究要旨

非小細胞肺癌における oncogenic driver mutation の解析を行うことにより、より個別的な治療や術後再発予防の戦略を立て上げるために、当院の細胞株および手術検体において最近、報告された CRK 遺伝子の増幅を調べた。今回の研究では明らかな増幅株は認めなかったが、手術検体での解析を進めている。WT1 もこのような oncogenic driver mutation となっている可能性がある。

A. 研究目的

非小細胞肺癌(特に肺腺癌)は、oncogenic driver mutation 別に分類できることが明らかとなりつつある。これらのうち、EGFR 変異肺癌に対しては EGFR キナーゼ阻害剤(gefitinib、erlotinib)が(Lynch et al. NEJM, 2004、Pao et al. PNAS, 2004)、ALK 肺癌に対しては ALK キナーゼ阻害剤 (crizotinib)がそれぞれ著効することが明らかとなり(Choi et al. NEJM, 2010)、このような oncogenic driver mutation の探索は臨床的にも重要性を増している。しかし一方で、約 40%の肺腺癌症例で oncogenic driver mutation が明らかとなっておらず、このような症例における新たな分子異常の探索が急務である。そんな中、CRK 遺伝子の増幅が肺腺癌の 3%に存在することが報告され、注目を集めている(Kim et al. Oncogene, 2010)。CRK 遺伝子の増幅の有無

に関して検索を行った。



B. 研究方法

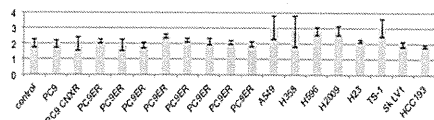
非小細胞肺癌細胞株 18 細胞株(当科で保有する肺癌細胞株 9 株及び EGFR-TKI 耐性株 9 株)、非小細胞肺癌手術検体 85 例より FastPure® DNA Kit を用いて gDNA を抽出し、Real-time PCR 法にて CRK 遺伝子コピー数を解析し、CRK 遺伝子増幅を有する細胞株が同定された場合は、その細胞株について解析をおこなった。CRK 遺伝子増幅を有する臨床検体については、前向きな肺癌手術データベースから臨床病理学的特徴を抽出して検討した。

(倫理面への配慮)

細胞株を用いた研究に関しては倫理的問題ないと考える。手術検体に関しては手術時に包括同意書を取得している。

#### C. 研究結果

当科で保有する肺癌細胞株及びEGFR-TKI耐性株においてCRKL amplificationは確認できなかった。



#### D. 考察

細胞株での検索ではCRKLの増幅は認めなかった。現在手術検体での頻度を解析中である。存在頻度を明らかにして臨床情報との関係を解析する。WT1についてもこのような手法による解析が可能であり、肺癌の oncogenic driver mutation の可能性があるかもしれない。

#### E. 結論

CRKL 遺伝子はアダプタータンパクである CRKL をコードする遺伝子(22q11.21)であり、EGFR の下流シグナルに関与していると考えられているが、CRKL 増幅肺腺癌の臨床病理学的特徴はまだ不明な点が多い。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

Tomizawa K, Suda K, Onozato R, Kuwano H, Yatabe Y, Mitsudomi

T. Analysis of *ERBB4* Mutations and Expression in Japanese Patients with Lung Cancer. *Journal of Thoracic Oncology*, 5(11):1859-61, 2010

Tomizawa K, Suda K, Onozato R, Kosaka T, Endoh H, Sekido Y, Shigematsu H, Kuwano H, Yatabe Y, Mitsudomi T. Prognostic and predictive implications of HER2/ERBB2/neu gene mutations in lung cancers. *Lung Cancer*. 2011, in press

K. Suda, K. Tomizawa, T. Mitsudomi: Biological and clinical significance of KRAS mutations in lung cancer: an oncogenic driver that contrasts with EGFR mutation. *Cancer Metastasis Rev.* 29:49-60, 2010. 総説.

K. Suda, I. Murakami, T. Katayama, K. Tomizawa, H. Osada, Y. Sekido, Y. Maehara, Y. Yatabe, T. Mitsudomi: Reciprocal and Complementary Role of MET Amplification and EGFR T790M Mutation in Acquired Resistance to Kinase Inhibitors in Lung Cancer. *Clin. Cancer Res.* 16(22): 5489-98, 2010. 原著論文.

## 2. 学会発表

富沢健二、須田健一、厚田幸子、丹羽由紀子、小野里良一、福本絃一、齊藤卓也、高坂貴行、片山達也、福井高幸、伊藤志門、安部哲也、波戸岡俊三、光富徹哉：一般口演：日本人原発性肺癌切除例における HER4 の発現と細胞外ドメインとキナーゼドメインの遺伝子変異解析. 第 110 回日本外科学会総会、2010、(名古屋)、[一般口演]

Kenji Tomizawa, Kenichi Suda, Ryoichi Onozato, Yasushi Yatabe, Tetsuya Mitsudomi: ポスター: Clinicopathological Features of Lung Cancers with HER2 Mutation. 第 69 回日本癌学会総会、2010、(大阪) [ポスターセッション]

富沢健二、須田健一、小野里良一、福井高幸、伊藤志門、谷田部恭、光富徹哉：一般口演：HER2 変異陽性肺癌の臨床病理学的特徴と標的治療の可能性. 第 51 回日本肺癌学会総会、2010、(広島) [一般口演]

Kenichi Suda, Isao Murakami, Tatsuya Katayama, Kenji Tomizawa, Hirotaka Osada, Yoshitaka Sekido, Yasushi Yatabe, Tetsuya Mitsudomi: Reciprocal and Complementary

Relationship between Epidermal Growth Factor Receptor T790M Mutation and MET Amplification in Acquired Resistance to Kinase Inhibitors in Lung Adenocarcinoma. 4th Asia Pacific Lung Cancer Conference, 2010, (Seoul), [口演]

## H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定含む)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他

厚生労働科学研究費補助金（難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業）  
分担研究報告書

肺癌に対する WT1 ペプチド免疫療法への開発研究

研究分担者 大阪市立総合医療センター 多田弘人

研究要旨

第 3 世代抗がん剤のうち、比較的副作用が少なく薬剤の投与が比較的簡単である Gemcitabine を試験薬とし、UFT を対象とした術後補助化学療法を行い、その予後について検討した。対象症例は 2001 年 7 月から 2005 年 12 月までに 609 例が登録された。

登録終了後 5 年間経過観察され、2011 年に解析された。再発および予後において両群間に統計学的有意差を認めることはできなかった。

A. 研究目的

非小細胞肺癌の完全切除後の予後は良好ではない。再発形式の殆どが遠隔転移であるため、再発を予防するには術後補助化学療法を行うことが進められる。しかし、どういった化学療法を行うかについては、現在のところ術後病期 1 期において UFT、術後病期 2-3 期においてシスプラチンとビノレルビンの併用の二つのみが証明されているにすぎない。UFT は本邦でしかデータがなく、シスプラチン+ナベルピンでは海外でしかデータがない。本邦では高齢者の占める割合が多いことや化学療法の認容性が欧米人より劣る傾向があることを鑑み、第 3 世代抗がん剤単剤と UFT の比較試験をすることを計画した。

B. 研究方法

完全切除された非小細胞肺癌、病理病期!B-III A（ただし、n2 症例については 1 ステーションまでに留まるものに限ることとした）で年齢 75 歳未満、5 年以内の活動性の重複がんを除くものを対象とした。登録症例を、Gemcitabine 1000mg/m<sup>2</sup> day1,8 に投与することを 3 周毎に 6 コース行う群と UFT250mg/m<sup>2</sup>/day を 1 年間投与する群に無作為に割り付けて補助化学療法を行った。主たる解析は全生存率とし、副次的解析は無再発生存と薬剤の服薬状況とした。

倫理面への配慮

プロトコールは各施設の IRB で承認された。同意は文書による同意とした。重篤な有害事象については JCOG の遊技自称取り扱いに準じて行い、効果安全性委員会の判断の下に行われた。

C. 研究結果

2001 年 7 月から 2005 年 12 月までの間に 609 例が登録された。最終患者が登録されてから 5 年間を経過観察し、結果を解析した。Gemcitabine に割り付けられた 305 例は 3 例が手術の合併症のため薬剤が投与されず、9 例が同意撤回で試験薬の投与が行われなかった。

UFT 群には 304 例が登録され、手術の合併症のため 3 例が、同意撤回によって 2 例が、非適格と判断されたため 2 例が試験薬の投与を受けなかった。その結果、Gemcitabine 群では 305 例が生存解析に、293 例が薬剤の服薬状況と毒性情報の検討が行われた。UFT 群では 303 例が（1 例の非適格例が誤解のために、一切の経過観察が行われなかった。）生存解析に、296 例が薬剤の服薬状況と毒性情報の検討が行われた。

両群間に、年齢、性別、PS、病理病期、組織方リンパ節郭清の程度についての偏りはみられなかったが、術式で Gemcitabine 群では胃全摘が 2.6%、UFT 群で 8.6%と有意に UFT 群の方に頻度が高かった。薬剤のコンプライアンスは、Gemcitabine の 6 コース投与された割合は 58.4%であった。UFT 群では投与期間の中央値は 343 日であった。両群とも補助化学療法の有害事象として、grade3,4 に当たるものは最頻のもので neutropenia が gemcitabine 群で 5.5%であったが、それ以外は 2-3%にしかすぎず軽微であった。

5 年生存率は Gemcitabine 群で 70%、UFT 群で 68%であり log-rank test で H.R. 0.948 で両群に差は全くみられなかった。5 年無再発生存率は、Gemcitabine 群で 55%、UFT 群で 50%であり、H.R.は 0.916 で両群間に差は認めなかった。

患者背景の中で予後に関係すると思われる性別、年齢(65 歳以下/以上)、PS0/1、病期 IB/II-III、組織型 (ad vs. sq) について subset 解析を行ったがいずれも有意差は認められなかった。

#### D. 考察

本邦で病期 IB に対して標準とされている UFT を、全病期を対象に標準治療に選定した。試験治療として Gemcitabine を採用して投与したが、両群間に有意差は認められなかった。切除後の成績は非常に良好であったため、差がつかなかったものと思われた。

#### E. 結論

本試験から、Gemcitabine 単剤による術後補助療法の有効性を証明することはできなかった。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

現在論文作成中である。

##### 2. 学会発表

1. Randomized Phase III Trial of Adjuvant Chemotherapy with Gemcitabine Compared with Oral uracil-tegafur in Resected, Stage IB-IIIa Non-small Cell Lung Cancer (WJTOG 0101) Mitsudomi et al. Annual meeting of ESMO Sep. 2011, Stockholm
2. 非小細胞肺癌治癒切除例に対する術後補助療法の第 III 相試験 (WJTOG0101) 第 49 回日本癌治療学会学術集会 一瀬ら 2011、10 月 名古屋
3. 非小細胞肺癌治癒切除例に対する術後補助療法の第 III 相試験 (WJTOG0101) 第 52 回日本肺癌学会総会 横井ら 2011、11 月 大阪

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定含む）

- |           |    |
|-----------|----|
| 1. 特許取得   | なし |
| 2. 実用新案登録 | なし |
| 3. その他    | なし |

厚生労働省科学研究費補助金 分担研究報告

研究題名：In vitro 抗がん剤感受性試験（CD-DST）に基づいた非小細胞肺癌術後補助化学療法の有用性の検討

分担者 大阪府立成人病センター 診療局長兼呼吸器外科部長 東山聖彦

#### 研究要旨

In vitro 抗がん剤感受性試験である CD-DST の臨床応用の有用性を示すため、非小細胞肺癌根治術後補助化学療法において、in vitro 感受性ありの薬剤を含むシスプラチンベースの化療レジメン（ベストレジメン）症例と、感受性薬剤がないため CDDP+VNR（又は CBDCA+PTX、標準レジメン）を投与した症例群を臨床的に比較検討した。その結果、術後の再発率は前群で有意に低く、2 群間の無再発生存率においても良好な傾向を認めた。本試験に基づいて選択的薬剤（ベストレジメン）を用いた術後補助化学療法は、術後成績の向上が示唆され、現在、前向きに症例の蓄積を行っている。

#### A. 研究目的

近年、多くの大規模臨床試験により、病理病期 IIA-III A 期非小細胞肺癌ではシスプラチンベースの術後補助化学療法を行うことで予後改善が示唆されている。さらに治療成績向上を目的に、抗がん剤感受性に関わる各種バイオマーカーや感受性試験を用いた個別化治療が試みられている。当施設では in vitro 抗がん剤感受性試験（CD-DST）を開発し、肺がんの化学療法の臨床応用を試み、手術標本を用いた感受性試験の結果が再発時の化学療法の効果と相関することを報告した（Oncol Rep 8:279, 2001, Lung Cancer 68:472, 2010）。そこで今回は、感受性結果に基づいて感受性薬剤を優先的に選択した術後補助化学療法を試み、その治療効果について検討した。

#### B. 研究方法

当センターにて 2006 年 8 月から 2010 年 11 月現在までに、CDDP ベースの術後補助化学療法施行 59 症例（根治切除施行、病理病期 IIA-III A）中、原発巣を用いた CD-DST 法による感受性試験結果を得ている 36 例を対象とした。その内、化療薬剤の感受性の有無により、CD-DST にて「感受性あり」薬剤を 1 剤以上使用した症例群（感受性群）は 22 例、一方、全く「感受性なし」のため CDDP+VNR または CBDCA+PTX を施行した症例群（非感受性群）14 例あり、この 2 群間を比較検討した。

倫理的配慮： 感受性試験にて感受性なし症例には、標準的レジメンによる補助化学療法を施行し、あくまで標準的治療をコントロールとしたベストレジメン治療の比較検討とした。



### C. 研究結果

感受性群：22例、年齢中央値61歳（54-76）、男性/女性=14例/9例、組織型は腺癌18例/扁平上皮癌2例/その他1例。病理病期はII期3例、IIIA期19例。ベストレジメン施行はCDDPベース20例/CBDCAベース2例。今までに7例(32%)が再発し、再発部位は胸郭内6例/脳1例。

非感受性群：14例、年齢中央値58歳（39-65）、男性/女性=9例/5例、組織型は腺癌12例/扁平上皮癌1例/その他1例。病理病期はII期1例、IIIA期13例。施行レジメンはCDDP+VNR12例/CBDCA+PTX2例。8例(57%)が再発し、再発部位は胸郭内4例/脳2例/多発2例。

これら2群間において、現時点では術後再発率は感受性群で低く、さらに2年無再発生存率も感受性群69%/非感受性群35%となり、有意差はないもののベストレジメンの方が良好な術後成績を伺わせた(p=0.09)。

### D. 考察

手術時に採取された原発巣組織を用いて *in vitro* 抗がん剤感受性試験を行い、その臨書的有用性を報告してきた(Oncol Rep 8:279, 2001, Lung Cancer 68:472, 2010)。さらに最近では、肺がんでは原発巣と転移再発巣では *in vitro* 感受性に差があることを明らかにし、特に血行性転移巣ではその差が著明である症例が多い一方、リンパ行性転移巣は差が比較的小さいことも明らかにしている(J Thorac Dis 4:40, 2011)。今回の術後補助化学療法において、感受性結果に基づいて高感受性を示す薬剤を選択したベストレジメン治療を行った症例は、非感受性のため標準的レジメン治療を行った症例に比べ、術後再発率や無再発生存率において良好な成績を示した。しかしその成績はあくまで傾向であり、今後の症例の蓄積による追加検討が必要である。肺がん術後治療において、より効果が期待される薬剤が示されれば補助療法として積極的に進めていくことは、肺がん治療の個別化治療として期待されよう。一方、*in vitro* 感受性試験にて一切感受性が認められない症例も経験され、このような症例にはWT1ペプチド免疫療法の候補症例として期待され、今後の検討結果を待ちたい。

### D. 結論

肺がん原発巣組織を用いた *in vitro* 抗がん剤感受性試験(CD-DST)により、高感受性薬剤を選択したベストレジメン術後補助化学療法は、術後成績の向上が示唆され、肺がん治療の個別化治療の一つとして期待される。

### F. 研究発表

論文発表

- Higashiyama M, Oda K, Okami J, Maeda J, Kodama K, Imamura F, Minamikawa K, Takano T, Kobayashi H. Prediction of chemotherapeutic effect on postoperative recurrence by in vitro anticancer drug sensitivity testing in non-small cell lung cancer patients. Lung Cancer. 68(3):472-7 2010.
- Higashiyama M, Okami J, Maeda J, Tokunaga T, Fujiwara A, Kodama K, Imamura F, Kobayashi H. Differences in chemosensitivity between primary and paired metastatic lung cancer tissues: *In vitro* analysis based on the collagen gel droplet embedded culture drug test (CD-DST), J Thorac Dis, 4:40-7, 2011

#### 学会発表

- 東山聖彦： 肺がんの個別化化学療法を目指して：抗がん剤感受性試験の現況と今後の展望 第45回制癌剤適応研究会（両国）（モーニングセミナー） 2012
- 東山聖彦、他：抗がん剤感受性試験(CD-DST)に基づいた非小細胞肺癌術後補助化学療法の検討 第28回日本呼吸器外科学会総会（別府）（一般口演） 2011

#### H. 知的財産権の出願・登録

1. 特許取得 CD-DST は、クラボウ（株）が取得
2. 実用新案登録

厚生労働科学研究費補助金（難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業）  
分担研究報告書

間質性肺炎合併肺癌の標準的治療法の確立に関する研究

研究分担者 国立病院機構 近畿中央胸部疾患センター 松村晃秀

研究要旨

肺癌は悪性腫瘍の中でも治療成績の不良な疾患で、わが国では悪性腫瘍による死因の第1位となっている。治療成績の向上のため、標準治療の確立が不可欠である。最近肺癌術後急性期の死亡に間質性肺炎の急性増悪の関与が報告されている。間質性肺炎はそれ自体が、肺癌の発生に関与するだけでなく、外科治療、抗がん剤治療、放射線治療のいずれにおいても急性増悪のリスクを有しており、治療法の選択に苦慮するが多い。

我々は、間質性肺炎を合併する肺癌に対して、術後急性増悪の予防法の確立を目指して、多施設共同研究を行っている。

- A. 研究目的 間質性肺炎を合併する肺癌の術後急性増悪の予防法を確立する
- B. 研究方法 多施設共同調査研究  
  
(倫理面への配慮) 介入試験ではないので、登録調査の同意を文書で得るのみ
- C. 研究結果 国立病院機構肺がん研究会で集積した過去の肺癌切除症例のうち、間質性肺炎を合併していたものの、術後生存調査から、間質性肺炎を合併する肺癌の予後が不良であることが示された。現在、登録調査を前向き研究とした、2次試験が進行中である。
- D. 考察 間質性肺炎合併肺癌の予後が不良であるのは、術後早期の急性増悪だけでなく、経過中の晩期の急性増悪、原疾患の進行、合併する肺癌の腫瘍学的悪性度が関与している可能性がある。
- E. 結論 間質性肺炎合併肺癌の外科治療成績は術後早期の急性増悪だけでなく、種々の要因が関与していることが示唆された。
- F. 研究発表
  - 1. 論文発表 なし（準備中）
  - 2. 学会発表 伊藤則正、松村晃秀、竹内幸康、上田孔明、荒木邦夫、田村厚久、岡野義夫、青木裕之、渡辺健寛、川島 修、永松佳憲、久保田伊

知郎、井上義一、北市正則：間質性肺炎を合併する原発性肺癌手術例の術後急性増悪の予防および治療法確立のための多施設調査研究（後ろ向き研究）。第 65 回国立病院総合医学会 2011.10.7（岡山）

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定含む）

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし