

氏名	もり りょう 森 遼		
学位の種類	博士（医学）		
報告番号	乙第 1901 号		
学位授与の日付	令和 3 年 10 月 7 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当（論文博士）		
学位論文題目	CDX2 Expression and Prognostic Factors of Resectable Pulmonary Large Cell Neuroendocrine Carcinoma （切除可能な肺大細胞神経内分泌癌における CDX2 発現のおよび 予後因子についての検討）		
論文審査委員	（主 査） 福岡大学	教授	藤田 昌樹
	（副 査） 福岡大学	教授	高松 泰
	福岡大学	准教授	濱崎 慎

内 容 の 要 旨

【目的】

1981 年以降、常に死因の 1 位は悪性新生物である。悪性新生物の部位別内訳において、肺は男性で 15.3%、女性で 9.8%を占め、死因においても男性では 1 位、女性では 2 位である（※1）。肺の悪性新生物のうち約 2 割が神経内分泌腫瘍とされ、定形カルチノイド（TC）、異型カルチノイド（AC）、小細胞癌（SCLC）、肺大細胞神経内分泌癌（LCNEC）に分類される。LCNEC は全肺癌の 1-3%と稀な腫瘍型であり、最初に報告された 1991 年から既に 30 年余が経過したが、その予後不良性のため臨床的特徴と治療法は現在も未確立である。例えば手術前後の補助化学療法において、小細胞肺癌及び非小細胞肺癌双方のレジメンが使われており、施設や主治医の裁量で選択されている。

LCNEC の病理組織学的特徴として、典型的には空胞状で核小体を持つ核と豊かな細胞質をもつ大型細胞が神経内分泌形態を示し、それが充実性ないし柵状に増殖する高悪性度の腫瘍とされる。核分裂像を高倍率 10 視野で最低 11 個以上（平均 70 個）認める。（※2）

ところで近年、大腸癌において腸管上皮に発現する CDX2 が着目されている。2016 年、米コロンビア大学のグループにより The New England Journal of Medicine に発表された「CDX2 as a prognostic biomarker in stage II and stage III colon cancer」において、CDX2 発現が大腸がん予後良好因子になると報告された。CDX2 は内胚葉性の決定因子であることが理由と考えられている。

今回、我々は LCNEC における CDX2 発現について着目した。CDX2 は肺癌では基本的に発現しないとされるが、LCNEC では CDX2 が発現したと少数報告されている。我々は LCNEC において免疫染色を用いた CDX2 発現の有無および、発現するとして大腸癌同様予後に相関するか否か、またその他に LCNEC 予後を規定する因子の有無について評価を行った。

【対象と方法】

2001 年から 2017 年にかけて福岡大学および関連 3 施設で切除された肺癌症例のうち病理学的に LCNEC と確定した 50 症例を対象に検討を行った。いずれも研究時点(2020 年当時)で最新の TNM8 版を用いて Stage I-III に分類された。解析はログランク検定および COX 解析を用いた Kaplan-Meier 法を使用した。評価項目は「性別・年齢・喫煙歴・腫瘍径・解剖学的腫瘍部位・リンパ節転移・胸膜浸潤・脈管浸潤・リンパ管浸潤・補助化学療法・手術方法・CDX2 発現」とした。IHC 免疫染色を用いて CDX2 発現と臨床病理学的要素と生存率について評価した。P 値は 0.05 を有意差ありとした。

【結果】

LCNEC50 症例中、42 症例 (84%) が男性、8 症例 (16%) が女性であった。年齢の中央値は 69.5 歳 (54-82 歳)。平均追跡期間は 50.0 ヶ月 (6-201 ヶ月) であった。追跡期間中に 23 症例 (46%) で LCNEC が再発し、23 症例 (46 症例) が死亡した。19 症例 (38%) に補助化学療法が施行された。16 症例 (32%) が免疫染色で CDX2 陽性であった。CDX2 の発現と臨床病理学的項目において相関関係を認めたのは「より若い年齢(p=0.04)」および「腫瘍径(p=0.02)」であった。その他の項目において関連性は認めなかった。

CDX2 の発現と 5 年無再発期間 (5-Year RFS)、5 年生存率 (5-Year OS) との関連性についての解析を行った。CDX2 陽性群と陰性群の 5-Year RFS に関連性は認められなかった (52.4%対 52.4%、p 値=0.94)。同じく 5-Year OS についても関連性は認めなかった (51.8%対 56.4%、p 値=0.81)。

脈管浸潤の有無と 5-Year RFS、5-Year OS との関連性についての解析を行った。脈管浸潤群は非浸潤群に対して 5-Year RFS は不良であった (25.0%対 62.3%、p 値=0.01)。5-Year OS についても同様であった (16.2%対 63.4%、p 値=0.01)。

リンパ管浸潤の有無と 5-Year RFS、5-Year OS との関連性についての解析を行った。リンパ管浸潤群は非浸潤群に対して 5-Year RFS は不良であった (18.2%対 62.8%、p 値=0.01)。5-Year OS についても同様であった (17.7%対 63.6%、p 値=0.01)。

補助化学療法の実施の有無と 5-Year RFS、5-Year OS との関連性についての解析を行っ

た。化学療法未実施群は実施群に対して 5-Year RFS は良好であった (69.6%対 26.7%、p 値=0.02)。対して 5-Year OS については関連性を認めなかった (63.5%対 38.3%、p 値=0.07)。

多変量解析では、「性別、年齢、リンパ節転移、リンパ管浸潤、脈管浸潤、補助化学療法の有無」について検討した。

多変量解析における RFS の予後不良因子は、補助化学療法の実施 (ハザード比 HR : 2.86、95%信頼区間 1.04-8.16、p 値=0.04) および、脈管浸潤の存在 (ハザード比 : 4.35、95%信頼区間 1.21-15.63、p 値=0.03) であった。OS に関連する因子は認めなかった。

【結論】

CDX2 は LCNEC の 1/3 に発現した。一般に肺癌では CDX2 は発現しないとされるが、本研究を通して LCNEC では CDX2 が発現することが明らかになった。また、大腸癌と異なり LCNEC では CDX2 は予後規定因子とはならないことが判明した。多変量解析における LCNEC の無病再発期間の予後規定因子は補助化学療法および脈管浸潤であった。

※1 全国がん罹患モニタリング集計 2014 年罹患数・率報告
厚生労働省「2018 年人口動態統計 (確定数)」

※2 日本肺癌学会 肺癌取扱い規約第 8 版

審査の結果の要旨

本論文は、予後不良な肺大細胞神経内分泌癌(LCNEC)における予後因子に関し、近年大腸癌の予後因子として報告される CDX2 の発現とともに検討を行ったものである。稀な腫瘍である LCNEC を 50 症例収集し検討したことは過去の報告と比較しても多数例の検討数であった。LCNEC の予後因子が脈管浸潤および化学療法の施行であることを同定した。また CDX2 が LCNEC で発現する場合があることを提示し、合わせて大腸癌とは異なり予後因子とはなりえないことを報告した。以下に本論文の斬新さ、重要性、研究方法の正確性、表現の明確さ、主な質疑応答の内容についてそれぞれ、記載する。

1. 斬新さ

LCNEC の予後因子について報告した論文は過去に数本しかなく、50 症例と多数の症例を対象に検討した点は非常に希少である。また LCNEC において近年大腸癌の予後因子と注目されはじめた CDX2 が発現することに着目し、CDX2 と LCNEC の関連について検討したことは斬新である。

2. 重要性

LCNEC は肺癌全体の 1-3%と稀な癌腫であり、50 症例を収集し検討したこと、また予後因子として脈管浸潤および化学療法の実施を同定したことは今後の LCNEC の診療において重要である。

3. 研究方法の正確性

本研究の対象は本院および福岡東医療センター、大牟田病院、今給黎総合病院（鹿児島市）の患者であり、同一教室で修練を積んだ複数の呼吸器外科専門医による診療データである点、また熟練した病理医による診断であることにおいて、一定の正確性を担保するものとする。また LCNEC を 50 症例検討したことは統計解析に十分な症例数である。表現の明確さ、目的、方法、結果については明確かつ詳細に表現されている。本研究は結果の考察にあたり統計学的手法を用いて各項目を評価しており、明確な結果と考える。また、本論文は既に Clinical Medicine Insights; Oncology に掲載されており、正確性は担保されている。

4. 表現の明確さ

目的、方法について明確かつ詳細に表現されている。結論も結果から直接的に導き出され、また結果に基づいた考察についても表現は明確である。

5. 主な質疑応答

以上の研究内容の説明に対して、審査員により、研究方法、結果の解釈、臨床的な意義に関する質疑が行われた。下記のような多数の質問があり、活発な討議が行われた。

Q: New England Journal of Medicine に報告された、CDX2 が Stage II/III 大腸癌で予後因子となるとの報告は非常に興味深い。肺癌で CDX2 が発現するのは主に腺癌とくに粘液産生型肺癌であるが、通常では神経内分泌癌と CDX2 を結びつけて考えることはない。なぜ今回 LCNEC において CDX2 が発現有無に着目したのか。また本来腸管由来である CDX2 が LCNEC で発現した理由をどう考察するか。

A: LCNEC は稀な肺癌であり予後因子についての報告は数本である。NEJM で CDX2 が大腸癌の予後因子になるとの報告から、Histopathology での LCNEC で CDX2 が染色される場合があるとの報告を参考として、LCNEC に応用できないか、また仮に予後因子となった場合革新的な発見になるのではないかと考え実際に検討を行った。LCNEC において CDX2 が発

現するその機序について考察したものは調べうる限りない。CDX2 は内胚葉性の規定因子であり、腸管上皮の発生・維持に関与しているとされる。これまで幹細胞から細胞が分化し個体が形成されていく過程は一方方向性であり、一度分化した細胞が元の未分化な細胞には戻ることではなく、他系統の細胞にはならないとされてきた。しかしながら強制的に転写因子群を導入することで、様々な分化細胞（心筋・皮膚・幹細胞）などに直接誘導できることが近年提唱され、ダイレクトリプログラミング理論と呼ばれている。肺では大細胞癌に限定して、CDX2 と SALL4 が関与し、気道上皮由来以外の癌、たとえば腸型肺腺癌や肺芽腫が発生する場合があると報告されている。CDX2 が発現する LCNEC はもともと大細胞癌由来のものであり、何らかの条件で LCNEC が誘導される際に CDX2 が関与したのではないかと考える。それが LCNEC において CDX2 が発現した理由と推察している。

Q: 今回、術後補助化学療法を実施した群で予後不良となったことは予想外の結果である。術後補助化学療法施行群と未施行群で転移形式・再発形式なにか違いはなかったか。

A: 各因子について検討をしたがいずれも有意差を認めなかった。

Q: LCNEC は診断の難易度が高い腫瘍のひとつであり、pure type をみることは少なく、他の組織型との混合型が多い。また、小細胞肺癌 (SCLC) と LCNEC の中間に相当する腫瘍があるとの見解もある。今回の他施設研究において組織型の分布はどうであったか。

A: 混合型が多数を占めた。しかしながら検討を行った症例はいずれも熟練した病理医がすでに LCNEC と診断した症例であり、再検討においても各異型細胞の割合からいずれも LCNEC と診断して差し支えない症例であった。

Q: 評価において染色強度を用いているが、染色割合等について詳しく解説していただきたい。

A: 異型細胞の面積を基準とした染色割合で評価した。カットオフを 10% としたが、実際にはびまん性に染まるものが大半であった。印象として平均は 70-80% 程度の染色割合であったと考える。

Q: 症例の神経内分泌マーカーによる染色の状況はどうであったか。

A: いずれの症例も感度・特異度の高い免疫染色が実施されているものを対象とした。

Q: 手術では部分切除・楔状切除等の縮小手術例が含まれる。これが統計解析において予後に影響を与えた可能性はないか。またそれが化学療法実施群の予後不良の原因となった可能性はないか。

A: バイアスを与えた可能性は否定できない。また化学療法の予後の結果に影響を与えた可能性もある。

Q; LCNEC は日本では SCLC のレジメン、海外の NCCN のガイドラインでは非小細胞肺癌 (NSCLC) のレジメンが推奨されている。どちらが良いと考えるか。

A; レジメンの比較検討をした前向き研究はいずれも小規模スタディーで明確なエビデンスを持つ報告はないと考える。今後の検討課題であると考えている。

Q; 今後、今回の LCNEC が CDX2 で発現する報告をどのように発展させていきたいのか。

A; LCNEC の診断は非常に難しいとされる。CDX2 の発現が病理診断の補助になれば良いと考える。

Q; CDX2 の機能は何か。

A; CDX2 は内胚葉の根本的な規定因子であり、腸管細胞の発現・維持に関与するものである。

Q; CDX2 発現例と未発現例の病理学的な差異はあるか。

A; 病理学的な差異はないと考える。区別は困難であると考えている。

また審査員より今後の検討課題として以下を指摘された。

LCNEC を 50 症例集めての検討は非常に稀であり、その他の要素の検討、CDX2 発現別の化学療法の予後解析等を追加検討してほしい。実験の結果で CDX2 が LCNEC に発現する可能性があることは理解できるが、論理の飛躍が否定できないことから、今後、生体内の LCNEC で CDX2 が発現する理由を検討・考察したら良い。

その他いくつかコメントがあったが、発表者はそのいずれにおいても的確に応答した。以上、内容の斬新さ、重要性、研究方法の正確性、表現の明確性および質疑応答の結果を踏まえ、本論文は博士学位論文に値し、学位申請者についても学位授与に値すると評価された。