

学位論文要旨

氏名 中島 裕康



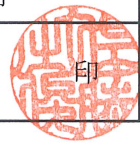
論文題目

[Prevalent and Up-regulated Vimentin Expression in Micropapillary Components of Lung Adenocarcinomas and Its Adverse Prognostic Significance]

(微乳頭構造を呈する肺腺癌におけるビメンチンの発現および予後との相関)

指導教授承認印

佐藤之俊



Prevalent and Up-regulated Vimentin Expression in Micropapillary Components of Lung Adenocarcinomas and Its Adverse Prognostic Significance

(微乳頭構造を呈する肺腺癌におけるビメンチンの発現および予後との相関)

氏名 中島 裕康

【背景】

全世界中において、原発性肺癌は未だ悪性腫瘍関連死の主要な原因の一つとなっており、予後不良な疾患である。原発性肺癌は、小細胞肺癌 (Small cell lung cancer: 以下 SCLC) と非小細胞肺癌 (Non-small cell lung cancer: 以下 NSCLC) に大別され、NSCLC が全体の約 80% を占めている。また日本においては、その中でも腺癌が過半数を占めており、最も多い組織型であると言える。腺癌の中で、fibrovascular core を伴わない micropapillary component を有する adenocarcinoma (adenocarcinoma with micropapillary component: 以下 AC-MPC) の概念は、1982 年に McDivitt らによって乳癌で初めて報告されてから以来、肺癌を含めた様々な癌種で報告されている。AC-MPC の特徴として、脈管浸潤やリンパ節転移を来しやすく、その他の腺癌 (conventional adenocarcinoma: 以下 CAC) に比し予後不良である事が今までに報告されており、International Association for the Study of Lung Cancer (IASLC)/the American Thoracic Society (ATS)/the European Respiratory Society (ERS) では、micropapillary predominant subtype を腺癌の亜型として新たに追加するよう推奨している。上記のごとく、AC-MPC が予後不良である事は様々な報告がなされてきたが、それに寄与する因子やメカニズムに関しては未だ不詳な事が多い。そのため本研究では、2次元電気泳動法を用いて、AC-MPC におけるタンパク質発現のプロファイルを行い、AC-MPC 特異的に発現しているタンパク質を同定し、臨床病理学的因子との相関を調査することにより、AC-MPC に対する特異的バイオマーカーを検出する事を目的とした。

【対象と方法】

[対象]

2002 年 1 月から 2012 年 12 月までに、北里大学病院で治癒切除された肺腺癌 629 症例を対象とし、組織の review を行った。Fibrovascular core を伴わない小腺管状構造を有する腺癌を AC-MPC と定義し、その他の肺腺癌を CAC と診断した。また、CAC を高分化型、中分化型、低分化型 (well differentiated conventional adenocarcinoma: 以下 WD-CAC, moderately differentiated conventional adenocarcinoma: 以下 MD-CAC, poorly differentiated conventional adenocarcinoma: 以下 PD-CAC) といった分化度で分類した。

[臨床病理学的因子の解析]

AC-MPC 群と CAC 群の 2 群間で年齢・性別・喫煙歴・腫瘍径・胸膜浸潤の有無・リン

パ節転移の有無・脈管浸潤の有無・および術後病理病期といった臨床病理学的因子の解析を χ^2 検定にて行った。生存率及び無再発線存率に関しては、Kaplan-Meier法を用い、多変量解析はCox Hazard modelを用いて検定した。

[2次元電気泳動法]

2006年から採取・保管している肺腺癌新鮮凍結組織からAC-MPCおよびCAC検体を選択し、2次元電気泳動を行い、発現量の異なるタンパク質を同定した。

[免疫染色]

同定されたタンパク質に関して、WD-CAC, MD-CAC, PD-CACおよびAC-MPCに対して、免疫染色を行った。それぞれの腺癌に対し、発現強度や発現部位といった詳細な評価を行った。免疫染色の結果はscoringし、Spearmanの順位相関検定およびone way ANOVA Dunnett's post hoc testを用いて解析した。すべての検定は、 $p < 0.05$ をもって有意とした。

【結果】

[臨床病理学的因子の解析]

629例中、AC-MPCと診断された症例は101例(16.1%)で、CACは528例(83.9%)であった。また、CACを分化度で分類したところ、WD-CAC, MD-CAC, PD-CACはそれぞれ315例、156例、57例であった。

AC-MPC群とCAC群で臨床病理学的因子を比較したところ、AC-MPC群は有意に若年者に多く($p=0.0147$)、腫瘍径・胸膜浸潤・リンパ節転移・脈管浸潤では、AC-MPC群においてより進行・浸潤している結果となった($p < 0.0001$) (Table 1)。また、生存率および無再発線存率に関して、AC-MPC群はPD-CACと類似した予後を示す結果となった (Figure 2)。

[2次元電気泳動法]

2次元電気泳動法を用いて、タンパク質発現のプロファイリングを行ったところ、AC-MPCとCAC間に1.5倍以上の発現の差を認めたタンパク質は61個であった。質量分析計を用いて、そのうちの19個のタンパク質が同定された。CACに比しAC-MPCにおいて最も発現に差を認めたタンパク質はvimentinであった (Figure 1, Supplemental table 1)。

[免疫染色]

免疫染色では、AC-MPCおよびCACにおいてvimentinの染色を行い、評価した (Figure 3)。AC-MPCに関しては、MPCおよび背景上皮腫瘍細胞(background non-MPC: 以下BG-NMPC)において発現が異なっていたため、各々に関してscoringを行った。Scoringの結果はWD-CAC: 0.6 ± 1.2 , MD-CAC: 1.9 ± 1.7 , PD-CAC: 3.8 ± 2.7 , MPC: 4.0 ± 2.1 , BG-NMPC: 2.3 ± 1.9 であり、WD-CAC, MD-CAC, BG-NMPCとMPCとの間に有意な発現の差を認めたが ($p < 0.0001$)、PD-CACとは同等の発現で、有意差は認められなかった ($p=0.561$) (Figure 4)。

[Vimentinの発現と臨床病理学的因子との相関]

101例のAC-MPCにおいて、臨床病理学的因子と vimentin の発現について相関を検索したところ、脈管浸潤陽性症例とリンパ節転移陽性例で、有意に vimentin の高発現を認めた ($p=0.0196$, $p=0.0122$) (Figure 5-A)。また、vimentin の高発現群と低発現群で群間比較を行うと、vimentin 高発現群では生存率および無再発生存率いずれも有意に不良であった ($p=0.0022$, 0.0052) (Figure 5-B, C)。Cox Hazard model を用いた多変量解析では、MPC における vimentin の発現が生存率および無再発生存率に關与する独立した予後規定因子となる結果となった (HR=2.72, 95%CI=1.23-6.52, $p=0.012$, HR=1.72, 95%CI=1.00-2.99, $p=0.047$.) (Table 2)。

【考察】

原発性肺腺癌において、2002年に初めて Amin らが AC-MPC の概念を報告してから、分子病理学的な研究を含め様々な報告がなされているが、その悪性度に起因する因子やメカニズムに関しては未だ不詳な事が多い。本研究では2次元電気泳動法を用いて、AC-MPC に特異的に発現するタンパク質を同定し、臨床病理学的因子との相関を調査した。本研究結果では、AC-MPC における vimentin の高発現を確認し、臨床病理学的な相関も確認された。Vimentin は type III 中間径フィラメントで、主に間葉系細胞の細胞骨格に關与するタンパク質と考えられている。また、原発性肺癌に関しては分化度や上皮間葉転換 (Epithelial mesenchymal transition: 以下 EMT) に關与すると言われている。これまでの報告から、AC-MPC において E-cadherin の発現低下は認められず、EMT の關与の可能性は低いと考えられる。また本研究結果では、AC-MPC は臨床病理学的に PD-CAC と類似した動態を示していた。以上の事から AC-MPC における vimentin の高発現は、EMT によるものではなく、脱分化に關与する可能性が高いと考えた。

【結語】

AC-MPC は、臨床的に低分化型腺癌と同等の予後を示す結果となった。また、2次元電気泳動法を用いて、AC-MPC における vimentin の高発現を認め、免疫染色でも PD-CAC と同等の vimentin の高発現を確認することが出来た。多変量解析においては、MPC における vimentin の発現が AC-MPC における予後規定因子となる結果が得られた。以上より、AC-MPC は低分化な性質を有する腺癌である可能性が考えられ、その機序として脱分化の可能性が考えられた。