

学 位 論 文 要 旨

氏 名 内藤 雅仁



論 文 題 目

「Microenvironmental changes in the progression from adenocarcinoma in situ to minimally invasive adenocarcinoma and invasive lepidic predominant adenocarcinoma of the lung」(置換型肺腺癌における上皮内腺癌から微少浸潤癌、浸潤型置換型肺腺癌への進展過程における微小環境の変化)

指 導 教 授 承 認 印

佐藤 之 俊



「Microenvironmental changes in the progression from adenocarcinoma in situ to minimally invasive adenocarcinoma and invasive lepidic predominant adenocarcinoma of the lung」 (置換型肺腺癌における上皮内腺癌から微少浸潤癌、浸潤型置換型肺腺癌への進展過程における微小環境の変化)

氏名 内藤 雅仁

【背景・目的】

末梢小型肺腺癌は形態的な特徴に焦点をあてて分類されてきており、特に最近までは、日本で提唱された野口分類が世界的に用いられてきた。野口分類は肺腺癌における CT 画像所見と病理所見との関連性を示しており、このことから肺腺癌の進行過程を推測することができると考えられている。

近年 WHO 分類が改訂され、この野口分類を基本として新たに置換型肺腺癌の分類が提唱された。すなわち adenocarcinoma in situ (AIS)、minimally invasive adenocarcinoma (MIA)、invasive lepidic predominant adenocarcinoma (LPA)である。AIS は既存の気道構造を置換しながら成長する腫瘍で、浸潤はせず前浸潤性の上皮内癌とされている。AIS の持つ形態的特徴は lepidic type (置換型) と称され、浸潤能が低いと考えられており、非浸潤部と表現されている。このような特徴を持つ AIS は何らかの変異により腫瘍浸潤部 (lepidic type 以外の形態を呈する腫瘍細胞や線維芽細胞を有する部位) を有するようになり、次のステージである MIA に進行する。MIA は 3cm 以下の腫瘍で、かつ 5mm 以下の浸潤部を有すると定義されている。この浸潤部が 5mm を超えるかもしくは腫瘍径が 3cm 以上になると、MIA の次のステージである LPA と定義される。このように置換型肺腺癌は多段階に進行していくと考えられ

ているが、このメカニズムについてはまだ解明されていないことが多い。

現在まで、浸潤部の腫瘍細胞の特徴が悪性度や発達段階を決定する重要な因子であるというところまでは報告されているが、浸潤部における腫瘍微小環境については研究がなされていない。肺腺癌において、腫瘍微小環境が腫瘍の悪性度に関わっているという報告はすでになされており、この腫瘍微小環境と腫瘍細胞が、置換型肺腺癌の多段階発達に関与している可能性は高いと考え本研究をすることとした。

【対象と方法】

我々はまず対象患者として 2003 年 1 月から 2010 年 3 月までに国立がんセンター東病院で肺癌に対して手術を受けた 1299 名から置換型肺腺癌の患者 270 名を抽出した。次に抽出した患者 270 名の組織検体に HE 染色を行い、WHO 分類（第 4 版）に基づいて病理組織学的に 4 グループに分類した。4 グループは AIS (n=51)、MIA (n=59)、LPA-S (LPA かつ腫瘍径が 3 cm 以下、n=113)、LPA-L (LPA かつ腫瘍径が 3 cm より大きい、n=47) とした。4 グループに対して臨床病理学的な検討を行った。さらに病理学的検討を行うために、我々は AIS、MIA、LPA-S、LPA-L である症例を 2011 年 1 月から 2014 年 3 月までに国立がんセンター東病院で置換型肺腺癌に対して手術を受けた患者より各 20 例（合計 80 例）ずつ抽出した。これらの検体に対して種々の免疫染色を行いそれぞれ 4 グループの差を比較し、それぞれの腫瘍細胞の特徴および腫瘍微小環境の変化を研究することとした。

免疫染色は非浸潤部では腫瘍細胞以外の腫瘍微小環境因子をほぼ認めないため、浸潤部と非浸潤部（病理学的に lepidic type の形態を呈する腫瘍細胞を有する部位）でそれぞれ評価を行うこととした。免疫染色マーカーとしては EMT 関連マーカー (E-cadherin、S100A4)、浸潤マーカー (laminin-5、ezrin)、幹細胞関連マーカー (ALDH-1)、成長因子受容体マーカー (c-Met、EGFR) の評価を各 20 症例に対して非浸潤部、浸潤部の腫瘍細胞でそれぞれ行った。微小環境因子としては Podoplanin-positive cancer-associated fibroblasts (PDPN+ CAFs)、CD204-positive tumor-associated macrophages (CD204+ TAMs) と CD34+ microvessel cells

の評価を浸潤部で行った。

【結果】

臨床的病理学的な統計結果では結果ではMIAと比較しLPA-Sで血管浸潤および胸膜浸潤が有意に高かったが、LPA-SとLPA-Lで有意な差は認められなかった。しかしながら、5年無再発生存率を見るとLPA-Lは他のグループと比較し有意に低い($p<0.01$)という結果であった。

免疫染色の結果では、非浸潤部でのLaminin-5 の発現がMIAでAISと比較して有意に高かった($p<0.001$)。MIAからLPA-Sへの発達段階では浸潤部でのLaminin-5 の発現がMIAからLPA-Sへ発達する段階で有意に高かった($p<0.001$)。さらに腫瘍微小環境因子として、LPA-Sの浸潤部ではPDPN+ CAFs、CD204+ TAMs、CD34+ microvesselが有意に高くなっていた(それぞれ $p<0.05$ 、 $p<0.001$ 、 $p<0.05$)。また 浸潤部でのEzrinの発現がLPA-Sと比較してLPA-Lで有意に高くなっていた($p<0.05$)。しかしながら、浸潤部の腫瘍微小環境因子はLPA-SからLPA-Lへ発達する段階で 有意な変化を認めなかった。

【考察】

本研究での免疫染色結果では MIA から LPA-S へ進行する際に最も変化が起きていた。浸潤マーカーである Laminin-5 の発現は特に浸潤部腫瘍細胞で上昇しており、この発達段階で腫瘍の浸潤度が上昇していくことが示唆された。さらに、腫瘍微小環境因子として PDPN+ CAFs、CD204+ TAMs、CD34+ microvessel の発現レベルが上昇していた。これらの腫瘍微小環境マーカーの発現上昇は、腫瘍悪性度と相関することが今まで報告されてきており、このことから、LPA-S の段階で腫瘍浸潤部では腫瘍細胞の浸潤能が増加し、さらに腫瘍周囲微小環境が腫瘍の悪性度を高めていると考えられる。一方でこれら微小環境因子は LPA-S から LPA-L および AIS から MIA への腫瘍発達段階では発現レベルが上昇していなかった。この現象は、腫瘍細胞の浸潤能増加と、悪性度を高める微小環境の変化が AIS から LPA に進行する際に重要な役割を担っている可能性を示唆する結果である。

MIA の非浸潤部と言われる部位で、浸潤マーカーである Laminin-5 が上昇していることも本研究では特徴ある結果である。過去の報告では Mathieu らが matrix metalloproteinases (MMPs) が肺腺癌の進行に関与していることを報告し、さらに腫瘍進行度と相関関係がある MMP-13 の発現が AIS と比較し、MIA で上昇していたと報告している。この報告は我々の今回の研究結果と矛盾していない。また Kanomata らは MMPs の肺腺癌における発現レベルが非浸潤部と浸潤部ではほぼ変わらないと報告している。これらのことと我々の今回の研究結果を合わせて考えると、MIA の段階ですでに非浸潤部と言われる部位も浸潤能を有する可能性が示唆される。

【結語】

本研究では AIS から肺腺癌がどのように発達していくかのメカニズムを置換型肺腺癌の形態的特徴である非浸潤部と浸潤部に分けて、免疫染色を行うことで研究した。研究結果では AIS から MIA へ腫瘍が発達する段階で、非浸潤部と今まで呼ばれていた部位で腫瘍細胞が浸潤能を獲得し、次のステージである MIA から LPA-S へ腫瘍が発達する段階の浸潤部で腫瘍細胞の浸潤能の上昇と腫瘍周囲の悪性度を高める腫瘍微小環境の形成が起きていた。この腫瘍発達段階でおこる現象は置換型肺腺癌が AIS から LPA に進行していく過程で重要な役割を果たしている可能性があると考えられる。