

	おかだ あきら
氏 名	岡田 英
学 位	博 士 (医学)
学位記番号	新大院博(医)第249号
学位授与の日付	平成20年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
博士論文名	p53、K-ras、EGFR 遺伝子変異からみた肺腺癌の細胞亜型分類の有用性の検討
論文審査委員	主査 教授 林 純 一 副査 教授 味岡 洋 一 副査 教授 木南 凌

博士論文の要旨

【目的】

肺腺癌は多彩な組織像や臨床経過及び治療反応性を示すことから、異なった生物学的特徴を持つ癌の集団と考えられる。現在の WHO 分類は組織構造のみによる分類のため、臨床では様々な肺腺癌が1つの亜型にまとめられてしまい有用でない。また分子標的治療薬 Gefitinib と上皮増殖因子受容体 (EGFR) の遺伝子変異との関連性が報告され、遺伝子情報に基づいた治療が重要となってきたが、WHO 分類は遺伝子情報を反映していない。そこで著者は、簡便で臨床上有用な分類法が求められていることから、p53 遺伝子変異の違いを反映する細胞亜型分類について、さらに K-ras 及び EGFR 遺伝子変異の有無との関連性を調べ、その有用性について検討した。

【対象と方法】

対象は原発性肺腺癌 223 例。年齢は 26 歳から 84 歳 (平均 61 歳) で、男性 124 例、女性 99 例。病理専門医 2 名と著者で、WHO 分類と独自の細胞亜型分類 (鋸釘型、円柱立方型、杯細胞型、多角形型、混合型) で分類した。細胞亜型分類では、癌の面積の 70% 以上を一つの細胞が占めた場合にそれぞれの亜型に分類し、多角形型は 95% 以上が充実性であった場合のみ分類した。混合型は複数の細胞型が混在し、かつどのタイプの細胞も 70% を超えない場合に分類した。遺伝子変異は、腫瘍の新鮮凍結標本からゲノム DNA を抽出して調べた。p53 遺伝子は SSCP と直接 Sequence 法で exon 4-8 及び 10 の変異の有無を確認し、K-ras 遺伝子の codon 12 点変異は変異アレル特異的増幅法 (MASA) で検索した。EGFR 遺伝子変異は LH-MSA を用いて、exon 19 の欠失と exon 21 の点変異を検索した。

【結果】

WHO 分類では 67% が混合型に分類されるが、細胞亜型分類では鋸釘型が 46% で最も多く、混合型、円柱立方型、多角形型、杯細胞型の順となった。両分類を対応させると WHO の混合型には様々な細胞亜型の症例が集められていた。p53 変異は、細胞亜型分類では円柱立方型・多角形型に、WHO 分類では腺房型に多かった。また男性、病理病期 II-IV に多

かった。*p53* 変異スペクトラムは、CpG 領域の G→A トランジションは鋳釘型で多く、G→T トランスバージョンは円柱立方型に多かった。その他の点変異は多角形型・混合型に多く、欠失/挿入は混合型に多かった。一方 WHO 分類では、皿型と *p53* 変異スペクトラムとの関連性は認められなかった。喫煙者の割合を調べると、細胞皿型では円柱立方型・多角形型が高く、WHO 分類では腺房型と粘液産生充実型が高かった。

K-ras 変異は、杯細胞型全例に認められ、また円柱立方型にもやや多かったが、WHO 分類では特徴的な分布は認められなかった。*EGFR* 変異は鋳釘型で 64% と多く、杯細胞型には変異はなかった。WHO 分類では腺房型で変異が少なかった。その他の因子で多変量解析を行うと喫煙のみが独立した関連因子であった。

【考察】

病理組織所見による分類では再現性が問題となるが、肺癌の病理診断に習熟していない著者が 1 度病理医に細胞皿型分類について習い、別の症例を独自に診断した結果 85% が一致し、高い再現性が確かめられた。診断が一致しないような症例は複数の病理医により個々に検討する必要があると考える。

肺腺癌には大きく 2 つのタイプが存在し、喫煙の影響が弱く内因性の原因が考えられる鋳釘・混合型と、喫煙が原因と考えられる円柱立方・多角形型とに分けることができた。一方 WHO 分類では発癌原因を推測するのは困難である。

K-ras 変異は杯細胞型に多く認められる。卵巣癌・膵癌でも同様の報告があり、粘液の産生や貯留などにも関わっている可能性がある。*EGFR* 変異が多い鋳釘型には Gefitinib が奏効しやすいといえる。また多変量解析では非喫煙者のみが独立して変異と関連する因子であり、男性でも非喫煙者であれば Gefitinib の効果が期待できる。

最近の網羅的遺伝子発現解析では、肺腺癌は II 型肺胞上皮細胞やクララ細胞に類似した腺癌 (TRU タイプ) と類似しない腺癌 (non-TRU タイプ) に分けられ、細胞の形態が遺伝子発現を反映するという報告があり、細胞皿型分類の有用性を示している。

K-ras 変異と *EGFR* 変異は互いに排他的である。一方 *p53* と *EGFR* については、やや排他的な傾向が認められた。これは、喫煙の影響が強い G→T トランスバージョンと *EGFR* 変異が排他的であるためと考えられた。

【結論】

肺腺癌の細胞皿型分類は、発癌原因や遺伝子変異情報を反映し、また簡便かつ高い再現性から、治療方針の決定の際など、オーダーメイド治療を行う上で WHO 分類に比べ有用な分類法である。今後その他の遺伝子異常や予後との関連性について検討する必要がある。

(論文審査の要旨)

多彩な病理組織像を示す肺腺がんは、現在のWHO分類では様々な症例が混合型に分類され、臨床的特徴や遺伝子異常を反映せず有用ではない。そこでこれに代わる分類として、癌細胞の形態にもとずいた細胞亜型分類法（鋸釘、円柱立方、杯細胞、多角形）を考案するとともに、肺腺がん手術症例223例を対象として、細胞亜型とその症例の喫煙状況、p53, K-ras, EGFR 遺伝子変異との関連性を検討した。その結果、円柱立方型と多角形型では喫煙率が高く、p53変異が多い、鋸釘型と混合型ではEGFR変異が多いこと、また杯細胞型ではK-ras変異を多く認めた。またp53変異では鋸釘型にGA変換が、円柱立方型にGT変換を多く認めた。一方、WHO分類ではp53変異頻度以外に細胞亜型と有意な関連性を認めなかった。以上、本細胞亜型分類は再現性が高いとともに簡便で広く臨床応用可能であり、発がん機序や遺伝子変異とも関連が深いため、症例ごとの治療方針策定に有用な情報を提供できる可能性があることを明らかにした点で学位論文としての価値を認めた。