

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 4 月 12 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462131

研究課題名(和文) 多発肺腺癌とエストロゲン代謝関連遺伝子多型、肺組織中エストロゲン濃度の関連

研究課題名(英文) Estrogen concentration in peripheral lung of Synchronous multiple lung adenocarcinomas

研究代表者

白石 健治 (Shiraishi, Kenji)

熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・助教

研究者番号：70363538

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：同時性多発肺腺癌群(SMLA) とコントロール群 で正常肺組織中のエストロゲン濃度を比較すると、estrone, estradiol 共にSMLAで有意に高値であった。また、CYP19A1 のSNP3764221のgenotype と肺内エストロゲン濃度との関連においては、estrone, estradiol 共にAアレル(AA/AG)で高値でCYP19A1のmRNA 発現もAアレルで有意に高値であった。SMLAの発生、進行にはアロマターゼの多型などに伴う肺実質での高エストロゲン環境が関与している可能性があると考えられた。

研究成果の概要(英文)：In this study, we quantitated estrogen concentration in the peripheral lungs of postmenopausal female patients with synchronous multiple lung adenocarcinomas SMLA. The tissue concentration of estrogens (estrone [E1] and estradiol [E2]) in the noncancerous peripheral lung were measured with liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry in postmenopausal female patients with lung adenocarcinoma. The concentrations of E1 and E2 in the noncancerous tissue were significantly higher in SMLA cases than control cases. The minor allele (A) of single nucleotide polymorphism rs3764221 were significantly associated with higher concentration of E1 and E2 and higher CYP19A1 mRNA expression. The tissue estrogen concentration of peripheral lung was significantly higher in SMLA than control cases. The high concentration of estrogen may be one of the causes of multicentric development of peripheral lung adenocarcinomas.

研究分野：呼吸器外科

キーワード：多発肺腺癌 エストロゲン

### 1. 研究開始当初の背景

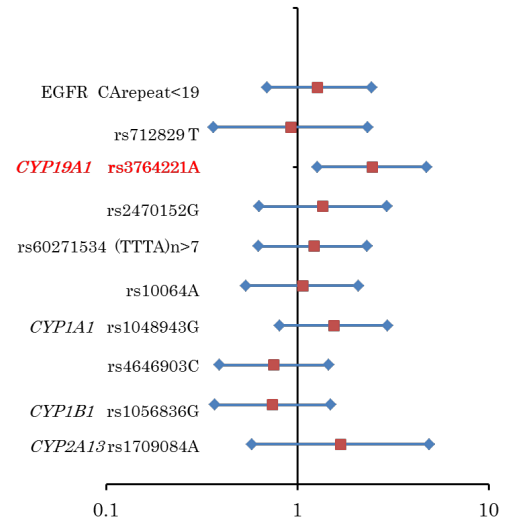
高分解 CT(HRCT) の普及により、肺野に複数個所のスリガラス様陰影 (GGO) を認める肺腺癌症例 (synchronous multiple lung adenocarcinomas (SMLA)) が増加してきている。これらの症例は非小細胞肺癌全体と比較して、非喫煙者、女性に多く、高率に EGFR 遺伝子変異を伴うことが知られている。またこれらの症例は肺野全体に病変が多発しており、すべての病変を外科的に完全切除することが不可能である症例も多い。

エストロゲンなどの性ホルモンの発癌に対する影響は乳癌や卵巣癌、前立腺癌などで知られているが、非小細胞肺癌、特に肺腺癌の発生、増殖にも関連性を持つことが報告されている。エストロゲン受容体 (ER $\alpha$ 、ER $\beta$ ) は非小細胞肺癌の 30-70% に陽性であり、その発現が予後不良因子となることが報告されている (Kawai H, et al. Clin Cancer Res. 2005)。アロマターゼはアンドロゲンを芳香化してエストロゲンを合成する酵素であり、その腫瘍内産生が閉経後乳癌の発育に強く関連し、治療のターゲットとなっている。肺癌でもエストロゲンは腫瘍局所で産生されており、腫瘍部で発現しているアロマターゼが重要な役割を果たしていることが示されている (Niikawa H, et al. Clin Cancer Res 2008)。また、このアロマターゼをコードする CYP19A1 の一塩基多型 (SNP) が、肺腺癌の発生のリスク因子となることが報告されている (Kohno T, et al. Carcinogenesis 2010)。

### 2. 研究の目的

我々は現在までの研究ですでに 51 例の多発肺腺癌症例と肺癌以外の患者 126 例との比較で、CYP19A1 の SNP rs3764221 が有意に多発肺腺癌の発生リスクとなることを証明している。 (Ikeda K. et al. Ann Surg Oncol. 2014, adjusted odds ratio= 3.06, P=0.006)

図 1: 各種遺伝子多型と SMLA リスク



CYP19A1 遺伝子はイントロン1に複数のプロモーターを有しており、組織特異的な variant が存在することが知られている (9)。この SNP はイントロン1の1-4プロモーターの近くにあり、卵巣以外の脂肪組織、皮膚や精巣などで働いていることが知られている。本研究において我々は、SMLA 症例および単発非小細胞肺癌症例において、非腫瘍部の正常肺において実際に Liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) 法を用いて組織中のエストロオール、エストラジオール濃度を測定することで、遺伝子多型の肺組織中のエストロゲン濃度上昇に寄与する影響と、多発肺腺癌発生との因果関係の検討を行う。

### 3. 研究の方法

2012年10月～2015年7月 熊本大学医学部附属病院呼吸器外科にて外科的切除を行った多発肺腺癌症例 51 例を含む 250 例の肺切除症例の非腫瘍部正常肺において腫瘍から離れた正常肺部分の凍結組織からタンパクを抽出し、Liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry (あすかメディカル) を用い Estrodiol/ Estriol の定量を行った。その結果と血液サンプルから解析した CYP19A1 SNP rs3764221 の多型ならびに、

非腫瘍部肺から抽出した mRNA から realtime-PCR 法を用いて定量した CYP19A1 の発現量と対比。さらには臨床病理学的因子との関連性を解析した。

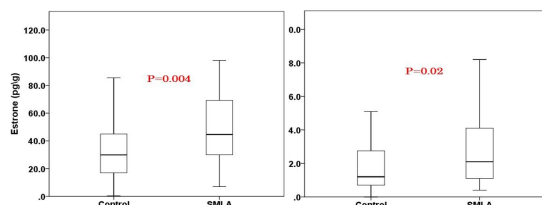
#### 4 . 研究成果

肺組織中のエストロゲン濃度は 55 歳未満女性で有意に高値であり、卵巣からの生成の影響が考えられた。55 歳以上の症例で解析すると、男性において有意に高値であった (estrone  $p<0.001$ , estradiol  $p<0.001$ )。エストロゲンの原料としての精巣から産生されるテストステロンの濃度が関連していると考えられた。55 歳以上男性での解析で喫煙との有意な相関は認めなかった。

以上の結果から多発肺腺癌の発生と肺内エストロゲン濃度との関連を検討するにあたり、55 歳以上の非喫煙者閉経後女性の肺癌切除症例 113 例 (多発肺腺癌 30 例) において解析を行うことにした。

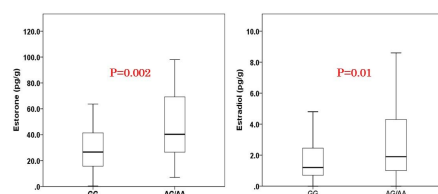
同時性多発肺腺癌群(SMLA) 30 例とコントロール群 (単発非小細胞癌症例 83 例 (腺癌 79, 扁平上皮癌 4, 腺扁平上皮癌 1 例)) と比較すると、estrone ( $p=0.003$ ), estradiol ( $p=0.02$ ) 共に多発肺腺癌症例で高値であった。

図 2 : 肺内エストロゲン濃度と多発肺腺癌



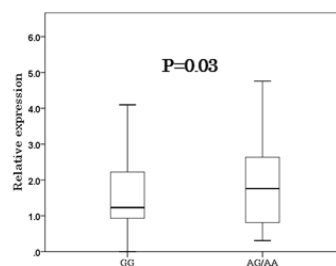
CYP19A1 の SNP rs3764221 の genotype と肺内エストロゲン濃度との関連においては、estrone ( $p<0.001$ ), estradiol ( $p=0.04$ ) 共に A アレル(AA/AG)で高値であった。

図 4: 肺内エストロゲン濃度と rs3764221 の遺伝子型



CYP19A1 の mRNA 発現と CYP19A1 rs3764221 genotype との関連においては、rs3764221 A アレルにおいて高値であった。

図 3: CYP19A1 mRNA 発現と rs3764221



我々の研究によって、エストロゲンの最終生成段階に関与する酵素アロマターゼをコードする CYP19A1 rs3764221 の A アレルが有意に多発肺腺癌のリスク因子として同定された。また、末梢肺のエストロゲン濃度を測定すると、閉経後女性での解析で SMLA において有意に高値であった。SMLA の発生、進行にはアロマターゼの多型などに伴う肺実質での高エストロゲン環境が関与している可能性があると考えられた。

#### 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

1. Ikeda K, Shiraishi K, Yoshida A, Shinchi Y, Sanada M, Motooka Y, Fujino K, Mori T, Suzuki M. Synchronous Multiple Lung Adenocarcinomas: Estrogen Concentration in Peripheral Lung. PLoS One. 2016 Aug 15;11(8):e0160910. doi: 10.1371/journal.pone.0160910.

〔学会発表〕(計 2 件)

1. 池田公英、白石健治. 肺癌切除症例の背景肺におけるエストロゲン濃度の検討. 第56回日本肺癌学会総会(2015年11月26-28日、横浜)
2. 池田公英、白石健治. 閉経後女性における多発肺腺癌の発生とエストロゲン代謝の関連性の検討. 第33回日本呼吸器外科学会総会(2016年5月12,13日、京都)

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

白石 健治 ( SHIRAISHI KENJI )  
熊本大学・大学院生命科学研究部・助教  
研究者番号： 70363538

### (2)研究分担者

鈴木 実 ( SUZUKI MAKOTO )  
熊本大学・大学院生命科学研究部・教授  
研究者番号：80312940

池田 公英 ( IKEDA KOEI )  
熊本大学医学部附属病院・助教  
研究者番号：20448525