

平成 29 年 5 月 23 日現在

機関番号：32653

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462139

研究課題名(和文) COPD合併肺癌発症機序解明のための癌幹細胞およびDriver geneの探索

研究課題名(英文) The roles of cancer stem cells and driver genes for clarifying the mechanism of lung cancer from COPD

研究代表者

関根 康雄 (SEKINE, YASUO)

東京女子医科大学・医学部・教授

研究者番号：70312957

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)：扁平上皮癌は遺伝子変異の多型が多く、そのためPD-L1の発現が高いと報告されている。我々はCOPDでの発生頻度が高い扁平上皮癌と様々な癌関連遺伝子との関係を調査した。肺扁平上皮癌50例に対して手術摘出標本の免疫染色(p65, PTEN, p16, PI3K, FGFR1)を行った。その結果、COPD合併肺扁平上皮癌例(25例)はCOPD非合併例(25例)と比較し、PTENおよびFGFR1の発現頻度が高い傾向を示した。また現在PD-L1の免疫染色を追加し、その関係をさらに検討している。

研究成果の概要(英文)：It has been reported that squamous cell carcinoma (SCC) has many polymorphisms and that expression of PD-L1 is frequently observed. SCC is highly observed in patients with COPD. We investigated the relationship between SCC and many types of cancer-related genes by immunohistochemistry (IHC). IHC (p65, PTEN, p16, PI3K, FGFR1) has been done for 50 cases of SCC. SCC patients with COPD (25 cases) tended to express PTEN and FGFR1 more strongly than non-COPD patients. Currently we investigate expression of PD-L1 for SCC.

研究分野：肺癌

キーワード：肺癌 扁平上皮癌 遺伝子多型 PD-L1

1. 研究開始当初の背景

近年、様々な新規抗癌剤が開発され、肺癌にも使用されており、一定の成果を挙げているが、その効果はいまだ十分とは言えない。今後は個々の癌の分子生物学的特徴をターゲットとした分子標的薬剤の開発が進むと予測される。肺癌においては、EGFR-TKI が既に臨床応用されており、VEGFR tyrosine kinase inhibitor である Bevacizumab の予後改善効果が明らかとなった。本研究の成果により、COPD 合併肺癌の発癌転移にかかわる分子生物学的特徴が明らかになれば、新たなターゲットによる個別化治療の開発が可能になるものと思われる。また、個別化治療は化学療法にのみ当てはまるものではない。患者の QOL と予後を重視した術式の選択と補助療法の組み合わせも個別化と言えるであろう。COPD 合併肺癌の特徴を明らかにし、たとえ進行癌であっても転移部位ごとの特徴に合わせて治療選択を行える時代が訪れると考えている。

2. 研究の目的

(1) COPD 患者に対する HRCT による画像解析

肺気腫合併肺線維症(combined pulmonary fibrosis and emphysema: CPFE)は上葉優位の気腫性変化と下葉優位の線維化が混在する病態である。肺癌患者の 8.9%に認められ長期予後も不良である。我々は肺癌手術症例における CPFE 合併肺癌の臨床的解析を行う。

(2) COPD 肺癌に特異的な発現異常を示す遺伝子の拾い上げと、その機能解析

炎症・免疫の分野では、COX-2、FOXP3 を、組織低酸素の分野では、HIF1-、VEGF を、細胞周期関連蛋白では p16、p21、細胞外マトリックスでは MMP-7、MMP-9、TIMP-1、TIMP-2 を検討する。また、Driver oncogene に関しては、FGFR1、CDKN2A/p16、PIK3CA、PTEN、NF-kB/p65 を検討する。癌幹細胞に関しては SP (Side population)、CD133、Aldehyde dehydrogenase (ALDH)、CD44 を検討する。まず切除症例を対象に免疫組織学的検討を行い、COPD 症例における蛋白発現と再発・予後の関連について検討を行う。各臨床病理学的因子において、特異的な発現を認めた蛋白に対し、RT-PCR による遺伝子発現の半定量解析および Western blotting 法による蛋白量の定量を行う。

(3) 低肺機能の肺切除患者に対する術後合併症予測としての耐運動能評価(6分間歩行試験、階段昇り試験)の有効性の検討

COPD、間質性肺炎を合併した肺切除患者は術後合併症のリスクが高く、一般的な呼吸機能検査に加え、さまざまな術前のリスク評価法が検討されている。

今回我々は比較的重症の COPD もしくは間質性肺炎を合併した肺切除患者に対し、COPD

の重症度や呼吸、循環系の運動因子の解析、予後予測として有効性が示されている6分間歩行試験や階段昇降試験を用いて術前の耐運動能力を測定し、術後合併症予測としての有効性を prospective に検証する。

(4) COPD 肺癌の発癌発生過程における分子生物学的特徴の解明

癌においてみられる遺伝子異常は、発癌する前の肺組織、気管支組織においても頻度は低いが存在することが報告されている。本研究では、COPD 肺癌の非腫瘍組織と非 COPD 症例の非腫瘍組織において、上記の遺伝子発現、蛋白発現を検討し、COPD 肺癌の非腫瘍組織にみられる異常を解明する。

3. 研究の方法

(1) 2008 年から 2012 年までに肺癌手術を施行した 250 例に対して retrospective に画像的評価を行い、肺気腫合併肺線維症(CPFE 群、11 例)、肺気腫のみの症例(emphysema 群、108 例)、間質影のみの群(IP 群、7 例)、それ以外の群(normal 群、124 例)の 4 群に分別し、CPFE 症例の臨床的特徴、予後に関して比較検討をおこなった。

(2) 扁平上皮癌は遺伝子変異の多型が多く、そのため PD-L1 の発現が高いと報告されている。我々は COPD での発生頻度が高い扁平上皮癌と様々な癌関連遺伝子との関係を調査した。扁平上皮癌 50 例に対して手術摘出標本の免疫染色(p65, PTEN, p16, PI3K, FGFR1)を行った。

(3) 当院で 2011 年 8 月から 2013 年 8 月までに、術後合併症のリスクが高いと考えられる比較的重症の肺疾患(術前呼吸機能検査で FEV1.0% < 70%、術前 CT 所見でゴード分類

8 点の気腫性変化、もしくは間質影を認める)を持った肺切除予定患者 10 人を対象に術前 6 分間歩行試験、階段昇り試験を行い、誤嚥性肺炎、HOT 導入等の術後合併症との関連性を検討した。

4. 研究成果

(1) CPFE 群ではすべて男性有喫煙歴で組織型は扁平上皮癌の割合が多く、呼吸機能検査においては、努力肺活量(FVC)や一秒量(FEV1)、一秒率(FEV1%)においては他の群と有意差を認めなかった。予後に関しては 4 群において有意差を認め(p=0.0016)、CPFE 群は最も予後不良であり、多変量解析において単独のリスク因子となった。stage の肺癌症例における emphysema 群との比較においても CPFE 群は有意に予後不良(p<0.0001)であり、死因として呼吸不全の割合が CPFE で有意に多かった(p=0.0008)。

結論: CPFE は呼吸機能検査では正常値を示す事も多いが、予後に関しては肺気腫のみの症例よりも悪く、さらに癌死よりも呼吸不全で

死亡する割合が高い傾向があり、術式の選択や周術期および長期管理に注意する必要があると考えられた。

(2) 肺 COPD 合併肺扁平上皮癌例(25 例)は COPD 非合併例(25 例)と比較し、PTEN および FGFR1 の発現頻度が高い傾向を示した。また現在 PD-L1 の免疫染色を追加し、その関係をさらに検討している。

(3) 対象 10 例のうち、4 人で誤嚥性肺炎や HOT 導入等の術後合併症を生じた。合併症を併発した患者は 6 分間歩行テストでは 400m 以下、階段昇り試験では 15m 以下の群で有意に多かった(p=0.033)。一方術後予測残存% FEV1.0 や術前の呼吸機能検査では、合併症を併発した患者と併発しなかった患者において有意差を認めなかった。結論として、低肺機能患者に対しては、静的呼吸機能試験にとどまらず、動的耐運動脳試験が有用ではないかと考えられた。また、術前の 6 分間歩行試験や階段昇降試験などの耐運動能評価は、肺機能だけでなく循環系の機能も含めて総合的に評価でき、また比較的簡便に施行できるため、とくに COPD や間質性肺炎などの低肺機能患者の術後の合併症予測において有用であると考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 7 件)

1. Wu D, Hiroshima K, Yusa T, Ozaki D, Koh E, Sekine Y, Matsumoto S, Nabeshima K, Sato A, Tsujimura T, Yamakawa H, Tada Y, Shimada H, Tagawa M. Usefulness of p16/CDKN2A fluorescence in situ hybridization and BAP1 immunohistochemistry for the diagnosis of biphasic mesothelioma. Ann Diagn Pathol. 2017 Feb;26:31-37. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2016.10.010

2. Hiroshima K, Wu D, Hasegawa M, Koh E, Sekine Y, Ozaki D, Yusa T, Walts AE, Marchevsky AM, Nabeshima K, Tada Y, Shimada H, Tagawa M. Cytologic Differential Diagnosis of Malignant Mesothelioma and Reactive Mesothelial Cells With FISH Analysis of p16. Diagn Cytopathol. 2016;44(7):591-8

3. Hata A, Sekine Y, Ohashi K, Koh E, Yoshino I. Impact of combined pulmonary fibrosis and emphysema on surgical complications and long-term survivals in patients undergoing surgery for non-small cell lung cancer Int J COPD 2016;11:1261-1268

https://www.dovepress.com/articles.php?article_id=27356

4. Hata A, Sekine Y, Koh E, Yamaguchi N.

Preoperative exercise testing is a better predictor of postoperative complications than pulmonary function testing for patients with lung cancer Open J Thorac Surg. 2015;5 : 15-20
<http://www.scirp.org/Journal/PaperInformation.aspx?PaperID=55111>

5. Sekine Y, Yanagihori R, Suzuki K, Sugiyama S, Yamaji H, Ishibashi M, Fujisawa T. Surveillance of chronic obstructive pulmonary disease in high-risk individuals by using regional lung-cancer mass screening Int J COPD 2014;9:647-656.

http://www.dovepress.com/articles.php?article_id=17314

6. Sekine Y, Sakairi Y, Yoshino M, Koh E, Hata A, Suzuki H, Yoshino I. The impact of combined pulmonary fibrosis and chronic obstructive pulmonary disease on long-term survival after lung cancer surgery Thorac Cardiovasc Surg 2014;62(4):332-7

7. Sekine Y, Fujisawa T, Suzuki K, Tsutani S, Kubota K, Ikegami H, Isobe Y, Nakamura M, Takiguchi, Y, Tatsumi K. Detection of chronic obstructive pulmonary disease in community-based annual lung cancer screening: Chiba COPD lung cancer screening study group. Respirology 2014;19: 98-104

[学会発表](計 2 件)

1. 畑敦、関根康雄、黄英哲. 肺癌手術症例における肺気腫合併肺線維症 (CPFE) の臨床的特徴と予後への影響日本呼吸器外科学会総会 2015 香川

2. 日本肺癌学会総会 2015 抄録
シンポジウム 合併症を有する肺癌に対する外科的治療戦略 CPFE 合併肺癌の外科治療成績 関根康雄、畑敦、坂入祐一、黄英哲、吉野一郎 日本外科学会総会 2015、横浜

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：

発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者 関根 康雄 (SEKINE, Yasuo)
東京女子医科大学・医学部・教授
研究者番号： 70312957

(2) 研究分担者 廣島建三 (HIROSHIMA,
Kenzo)
東京女子医科大学・医学部・教授
研究者番号： 80218833

(3) 研究分担者 黄 英哲 (Koh, Eitetsu)
東京女子医科大学・医学部・講師
研究者番号： 40375689