

氏 名	みやうち えいさく 宮内 栄作
学位の種類	博士(医学)
学位授与年月日	平成26年3月26日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科(博士課程)医科学専攻
学位論文題目	発生部位と TTF-1 遺伝子の発現に着目した小細胞肺癌の層別化の試み
論文審査委員	主査 教授 一ノ瀬 正和 教授 安田 純 客員教授 前門戸 任

論文内容要旨

これまで小細胞肺癌(Small cell lung cancer; SCLC)は、喫煙との因果関係があることから肺門部から発生する中枢型肺癌と考えられてきた。しかし、日常診療では肺の末梢に原発巣を有する SCLC を経験することは少なくない。末梢型肺癌の代表である肺腺癌は末梢肺の lineage marker である

TTF-1(Thyroid transcription factor-1)を高率に発現しており、大部分の SCLC も同様に TTF-1 の発現を認める。また肺腺癌では、TTF-1 はがん遺伝子としての機能があることが明らかになっている。以上の理由から「SCLC の多くは末梢型肺癌であり、TTF-1 の発現と関連が認められ、さらには TTF-1 が癌の悪性度に関わっている」との仮説を立て、検証を行った。加えて、癌の発生部位や TTF-1 の発現により予後に影響するような層別化が可能なのか遺伝子発現解析を加えた検討を行った。

2004 年から 2011 年までに、組織学的に SCLC と診断された 96 例について、CT 画像で原発巣が区域気管支までの気管支に直接入り込んでいるものを中枢型、それ以外を末梢型と定義し発生部位の検討を行った。また、全ての症例について免疫組織化学的に TTF-1 の発現を評価し、癌の発生部位と TTF-1 の発現の関連性を検討した。さらに予後との関連性についても検討を行い、予後に影響を及ぼした因子により SCLC の層別化が可能であるのか、遺伝子発現解析および細胞実験により検証を行った。

96 例中、69 例(75%)は CT 画像上、末梢型と判定され、79 例(82%)に TTF-1 の発現を認めた。末梢型の症例の大部分(69/72=96%)は TTF-1 陽性であり、中枢型の症例の大部分は TTF-1 陰性であった(14/24=58%) ($p<0.001$, Pearson のカイ二乗検定)。Cox 比例ハザードモデルを用いた多変量解析では 3 つの因子(末梢型、TTF-1 陽性、進行病期)が有意な予後不良因子であった。これらの結果をもとに、予後に差がみられた末梢型と中枢型で遺伝子発現の違いを検証するために、マイクロアレイを用いた遺伝子発現解析を行った。その結果、末梢型で高発現している遺伝子群には、神経内分泌癌に関わる遺伝子が含まれており、本研究で着目した TTF-1 も高発現していた。この結果は Gene ontology(GO)解析でも確認され、末梢型で高発現している遺伝子群には神経内分泌に関わる GO term が多く含まれていた。一方で、中枢型で高発現している遺伝子群における GO 解析では、発生に関わる遺伝子が多く含まれていた。次に、SCLC でも癌の悪性度に関与しているのかを検証するために TTF-1 を発現している SCLC 細胞株を用いて RNAi(RNA interference)による TTF-1 遺伝子のノックダウン実験を行った。その結果、TTF-1 をノックダウンすることにより SCLC 細胞株の細胞増殖能および浸潤能が抑制され、TTF-1 は腫瘍の悪性度に関わっている事が示唆された。

以上の結果から、SCLC の発生部位と TTF-1 の発現には有意な相関関係があることが明らかとなった。末梢型 SCLC と中枢型 SCLC は予後が異なる集団として層別化が可能であり、両者の遺伝子発現プロファイルが異なる事が確認された。両者は性質の異なる集団として層別化でき、TTF-1 を発現している多くの SCLC では TTF-1 が癌の悪性度に関わっている可能性が示唆された。

審査結果の要旨

博士論文題目 発生部位と TTF-1 遺伝子の発現に着目した小細胞肺癌の層別化の試み

所属専攻・分野名 医科学専攻・内部病態学講座呼吸器内科学分野

氏名 宮内 栄作

原発性肺癌の 10～15%を占める小細胞肺癌(Small cell lung cancer; SCLC)は、他の組織型と比べ最も予後不良であることから新たな治療法の開発が急務となっている。SCLC は喫煙との因果関係が明白であることから肺門部から発生する中枢型肺癌と考えられてきたが、その発生母地を詳細に検討した研究は少ない。本研究は末梢肺の lineage marker である TTF-1(Thyroid transcription factor-1)が肺腺癌だけではなく SCLC でも発現していることに着目し、SCLC の発生母地の疑問点を CT 画像により評価し、TTF-1 の発現との関連性を検討することで解決を試みた論文である。本研究では臨床データを用いた予後解析と新鮮凍結組織を用いた遺伝子発現解析を加えることにより SCLC を層別化することが可能なのか、臨床病理学的、細胞生物学的、分子生物学的アプローチで検討が行われ、さらには遺伝子導入によるがんの悪性度についての検討も行われている。

組織学的に SCLC と診断された 96 例について、CT 画像で原発巣が区域気管支までの気管支に直接入り込んでいるものを中枢型、それ以外を末梢型と定義し発生部位の検討を行った。また、免疫組織化学による TTF-1 の発現を評価し、原発巣の部位と TTF-1 の発現の関連性を検討した。さらに発生部位や TTF-1 の発現の有無により予後解析を行い、これらの因子による層別化が可能であるのか、遺伝子発現解析および細胞実験を加えた検証を行った。

96 例中、69 例(75%)は CT 画像上、末梢型と判定され、79 例(82%)に TTF-1 の発現を認めた。末梢型の症例の大部分(69/72=96%)は TTF-1 陽性であり、中枢型の症例の大部分は TTF-1 陰性であった(14/24=58%) ($p<0.001$, Pearson のカイ二乗検定)。Cox 比例ハザードモデルを用いた多変量解析では 3 つの因子(末梢型、TTF-1 陽性、進行病期)が有意な予後不良因子であった。これらの結果をもとに、予後に差がみられた末梢型と中枢型において、遺伝子発現プロファイルを比較検討するために、マイクロアレイを用いた遺伝子発現解析を行った。その結果、末梢型で高発現している遺伝子群には、神経内分泌癌に関わる遺伝子が含まれており、本研究で着目した TTF-1 も末梢型で高発現していた。この結果は Gene ontology(GO)解析でも確認され、末梢型で高発現している遺伝子群には神経内分泌に関わる GO term が多く含まれていた。一方で、中枢型で高発現している遺伝子群における GO 解析では、発生に関わる遺伝子が多く含まれていた。次に、SCLC でも癌の悪性度に TTF-1 が関与しているのかを検証するために TTF-1 を発現している SCLC 細胞株を用いて RNAi(RNA interference)による TTF-1 遺伝子のノックダウン実験を行った。その結果、TTF-1 をノックダウンすることにより SCLC 細胞株の細胞増殖能および浸潤能が抑制され、TTF-1 は腫瘍の悪性度に関わっている事が示唆された。

以上の結果から、SCLC が肺の末梢に発生頻度が高く、末梢肺の細胞系譜マーカーである TTF-1 の発現と有意な相関関係があることが明らかとなった。SCLC は発生部位により予後が異なる集団として層別化が可能であり、両者の遺伝子発現プロファイルが異なる事が確認された。また、TTF-1 が SCLC の悪性形質に関与している可能性が細胞株を用いた遺伝子導入実験から示され、治療法の開発を見据えた今後の研究の展開が期待される

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。