

**P1-9.****肺腺癌におけるエストロゲン受容体 (ER) と上皮成長因子受容体 (EGFR) —特に EGFR 突然変異との関係について—**

(大学院単位取得・外科学第一)

○稲田 秀洋

(外科学第一)

野村 将春、坂田 義詞、名和 公敏  
桑島 由佳、大平 達夫、平野 隆  
加藤 治文

【目的】 エストロゲン受容体 (estrogen receptor: ER) は特に乳癌における癌遺伝子として以前より研究されてきた。また上皮成長因子受容体 (epidermal growth factor receptor: EGFR) は正常組織において細胞の分化、発達、増殖、維持の調節に重要な役割を演じているが、同時に肺癌を含めた、様々な悪性腫瘍の増殖にも関係している。この両者は相互作用し、ER の過剰発現は EGFR の発現を抑制すること、またその逆の作用が報告されている。近年、肺腺癌において EGFR の突然変異が発見され、その治療的重要性が注目されている。特に日本人を含めた東アジア人種で突然変異の頻度が高く、チロシンキナーゼ阻害剤の有用性が報告されている。しかし、その効果は最終的な予後には必ずしも反映されておらず、EGFR に関与する物質を精査することは特に、日本人の肺癌の治療戦略上必須である。そこで今回、我々は EGFR の発現に影響する ER の発現を調べた。

【対象と方法】 対象は EGFR の突然変異 (Ex19 Deletion mutation と Ex21 L858R) を持つセルラインと持たないセルライン及び突然変異を有する肺腺癌患者 ( $n=43$ ) と有さない肺腺癌患者 ( $n=39$ ) である。

EGFR の突然変異は各セルライン及び各症例から DNA を抽出後、EGFR 遺伝の Ex19 及び Ex21 を PCR 法によって増幅した後、シークエンス法によって調べた。2種類の ER (ER $\alpha$ 、ER $\beta$ ) 及び EGFR の発現は DNA を用いた定量 PCR によって調べた。内因性因子としては  $\beta$ -actin を用いた。各蛋白質の発現はパラフィン切片を用いた免疫組織染色にて調べた。各データは EGFR 突然変異 (+) 群と (-) 群で比較した。また対象患者の各データは臨床情報に基づき統計学的に解析した。

【結果】 1) ER $\alpha$  の発現は EGFR 突然変異 (+) 群と (-) 群で有意な差は認められなかった。ER $\beta$  の発現は EGFR 突然変異 (+) 群で有意に増加していた。EGFR の発現は EGFR 突然変異 (+) 群で有意に増加していた。各遺伝子の発現が増加している症例では、そうでない群と比較して免疫組織染色にて強い陽性反応が認められた。

2) EGFR 突然変異 (-) 群では EGFR の発現は、ER $\alpha$  の発現とは正相関を、ER $\beta$  の発現とは逆相関を示したが、(+) 群ではそのような傾向は見られなかった。

3) Kaplan-Meier 法を用いた、生存曲線に評価においては ER $\alpha$ 、EGFR の発現は影響を及ぼさなかったが、ER $\beta$  が高く発現している症例群では予後が有意に悪かった。

【考察】 EGFR 突然変異 (-) 群においては、乳癌などで報告されているように、ER $\beta$  と EGFR との間で同様の相関関係が認められた。また、EGFR 突然変異 (+) 群では (-) 群で認められた関係が喪失していること、ER $\beta$  の発現が有意に上昇していることより EGFR の突然変異の発現に ER $\beta$  が関与している可能性を示唆している。さらに ER $\beta$  の発現は予後に関係しており、肺腺癌の治療上重要な因子であることが示唆された。

**P1-10.****非小細胞癌におけるアポトーシス関連蛋白と転写調節因子の発現とその臨床的意義に関する検討**

(大学院四年・外科学第一)

○名和 公敏

(外科学第一)

垣花 昌俊、坂田 義詞、稲田 秀洋  
大平 達夫、平野 隆、加藤 治文

(病理学)

松林 純、向井 清

癌は種々の蓄積した遺伝子異常にもとづく多段階発癌の過程をとるとされている。

真核細胞の遺伝子発現は、転写、RNA プロセッシング、核から細胞質への mRNA の移行、翻訳、RNA 分解といった過程の中でもとりわけ翻訳制御の異常が細胞増殖や細胞死と密接に関連することが報告され

てきた。

プロトオンコジーン eIF4E は、他の翻訳開始因子と共役して翻訳過程を制御する。eIF4E を過剰発現させると、選択的にオンコジーン、プロトオンコジーン、増殖因子、増殖促進因子の蛋白合成が亢進し、細胞機能の異常を来す。結果、異常な細胞増殖や形質転換が惹起され、癌化を来す。

Survivin は近年認識された抗アポトーシス蛋白の一種で、腫瘍細胞の増殖に関与していると考えられている。

これら増殖因子の異常、アポトーシスの回避が腫瘍細胞の転移、浸潤に関連すると考えられ予後や悪性度との相関が報告されているが、肺癌で詳細な検討を行った報告は少ない。そこで本研究では、ヒト末梢肺野発生の腺癌における転写調節因子、抗アポトーシス因子、増殖因子の出現を試み、肺癌の発生と増殖機序ならびに、進展防御に関し、増殖因子および新規細胞内シグナル伝達阻害因子との関連について検討を行った。

2001年1月～2002年12月に手術を施行した肺癌切除症例で、病理学的に N0、N1、N2 と診断された症例を対象とし、全 85 例のパラフィン切片の抗 eIF4E 抗体、抗 VEGF 抗体、抗 VEGF 受容体抗体、抗 Survivin 抗体を用いて免疫組織染色した。それぞれの染色強度は、腫瘍細胞（正常気管支上皮と同程度の強度を+2として+1から+3に分類）と腫瘍間質細胞（間質部リンパ球と同程度の強度を+2として0から+3に分類）に分けて判定した。

また肺癌培養細胞株に対し種々の抗癌剤を用いて治療した後に蛋白を抽出し、上記抗体を用いてウェスタンブロッティングを行った。

## P1-11.

### 非小細胞肺癌における術後化学療法の効果予測を目指したバイオマーカー (Reticulocalbin) の評価

(大学院単位取得・外科学第一)

○片場 寛明

(外科学第一)

平野 隆、龔 雲波、果 然  
前田 純一、小鹿 雅和、中島 紀夫  
及川 武史、大平 達夫、坪井 正博  
加藤 治文

現在非小細胞肺癌の術後補助化学療法は、術後病理病期で IB 期にはウラシル・テガフルの経口投与、II 期以上の症例には白金製剤を中心とした化学療法が行われることが多い。しかしいずれの報告でも術後補助化学療法による 5 年生存率の上積みは 5～20% 程度に過ぎず、多くの症例は術後補助化学療法によって得られる利益がほとんどない。臨床現場では術後補助化学療法によって利益が得られる患者グループを高い確率で推測することが求められているが、有効なバイオマーカーとして reticulocalbin (RCN) というカルシウム結合性蛋白質の可能性が報告されている。しかしこの抗体はホルマリン固定標本に利用できず、実際の臨床医療にすぐに応用することが困難であった。そこでホルマリン固定標本を前処理後に免疫組織学染色を行い、同様の結果が得られるか検討した。1986年～1999年の間に、東京医科大学病院呼吸器外科において外科的切除された非小細胞肺癌 2,029 例のうち、術後病理病期 IIIA および IIIB 期は 523 症例であった。その内、白金製剤を中心とした術後補助化学療法を 2 コース以上行い、標本作成が可能であった 83 例 (25～79 歳、平均 61 歳) を対象とし解析した。RCN は陽性細胞数、染色強度で (-)、(±)、(+) の 3 段階に分類した。(+) は 36 例、(±) は 14 例、(-) は 33 例であり、(-) を陰性とし、それ以外を陽性として判定した。83 例の 5 年生存率 (overall survival) は 33.7% で、陰性例では 30.6%、陽性例では 36.2% ( $p=0.019$ ) であった。また組織型、分化度、RCN、T 因子、リンパ節転移数で多変量解析を行ったところ RCN の発現の有無が最も有意な予後因子であった ( $p=0.016$ )。ホルマリン固定標本を用いた場合でも術後補助化学療法の効果判定に RCN の発現評価は有効と考える。