

論文の要旨

申請者 亀田光二

研究論文題目

肺腺癌の Adenoma-carcinoma sequence および発生母地における Q-FISH 法を用いた
テロメア長の研究

1 目的

テロメアは染色体末端に存在する 6 塩基対の繰り返し配列で、細胞分裂により短縮し、老化や種々の老年病、発癌との関連性がある。テロメア長の異常な短縮は染色体の不安定性を招き、固形癌の発生母地や前癌病変ではテロメアの短縮がみられる。テロメア長の測定には、従来サザンブロット法が多く用いられてきたほか、近年は細胞種毎に測定可能な Quantitative fluorescent *in situ* hybridization (Q-FISH) 法が導入されている。

末梢型肺腺癌は呼吸細気管支を構成するクララ細胞(Clara cell, CC) や肺胞の II 型肺胞上皮細胞が発生母地とされ、前癌病変の異型腺腫様過形成 (Atypical adenomatous hyperplasia, AAH) を経て、上皮内腺癌、浸潤性腺癌へと進展する Adenoma-carcinoma sequence が想定されている。しかし、末梢型肺腺癌の Adenoma-carcinoma sequence におけるテロメア長の解析は極めて少ない。

本研究は2つのテーマからなり、1つめは AAH と肺腺癌 (adenocarcinoma, ADC) の上皮内腺癌成分 (Lepidic pattern, Lep) におけるテロメア長の変化の検討、2つめは ADC を生じた背景肺と対照肺の呼吸細気管支構成上皮細胞 [CC、線毛上皮細胞 (Ciliated epithelial cell, CEC)、基底細胞 (Basal cell, BC)] におけるテロメア長の比較検討である。これらの検討を Q-FISH 法を用いて解析し、臨床病理学的因子との関係を含めて検討した。

2 対象並びに方法

症例は、肺葉切除術もしくは区域切除術を施行された ADC 症例および転移性肺腫瘍 (Metastatic carcinoma, Met) 症例を対象とし、術前化学療法もしくは術前放射線療法施行例は除外した。抽出した症例は 3 群からなり、(1) 切除肺内に AAH の併存が認められた ADC 症例 26 例、(2) 切除肺内に AAH の併存が認められず、脈管浸潤、胸膜浸潤、肺内転移ならびにリンパ節転移が認められない ADC 症例で、肺野に組織学的に明らかな炎症、肺気腫、線維化等、他病変が認められない 31 例、(3) 切除肺内に AAH を含まない Met 症例で、(2) と同様の肺野所見を示す 14 例で解析を行った。

AAH を有する ADC 症例では AAH 及び Lep の各領域で、AAH を認めない ADC 症例および Met 症例では呼吸細気管支の部分で、それぞれ Tissue microarray (TMA) を作製した。TMA 組織切片にテロメア及びセントロメアに対する Peptide nucleic acid (PNA) プローブを用いて、Q-FISH を施行した。Q-FISH 標本をデジタル画像撮影し、この画像上で解析する細胞を同定して、各核内のテロメアおよびセントロメアの蛍光光度を解析し、培養細胞株を内部コントロールとした Normalized telomere-centromere ratio (NTCR) を細胞種毎に決定した。

NTCR をテロメア長として扱い、測定した各細胞種のテロメア長について統計学的手法を用いて比較検討した。さらに、臨床病理学的因子との関連を検討するため、喫煙歴や年齢、性別等で層別化してテロメア長を比較した。

3 結果

AAH と Lep との比較では、後者のテロメア長が有意に長かった。これらに ADC 背景肺の CC (発生母地群)、Met 背景肺の CC (対照群) を加えた 4 細胞種間で、喫煙歴の有無で層別化してテロメア長を比較したところ、喫煙者群では対照群と比べ発生母地群のテロメア長に有意な短縮がみられた。一方、非喫煙者群では 4 細胞種間に有意差はみられなかった。

臨床病理学的因子を加味した背景肺の CC、CEC、BC におけるテロメア長の解析では、非喫煙者群において、いずれの細胞種でもテロメア長と年齢の間に有意な負の相関関係が認められたが、喫煙者群では相関関係は明らかでなかった。さらに、年齢（65歳）で層別化した上で、ADC 症例と Met 症例を喫煙者群と非喫煙者群に細分化した4群間で多重比較分析を行ったところ、65歳未満の CC において、ADC 症例・喫煙者群のテロメア長が ADC 症例・非喫煙者群と比べ有意に短縮していた。

4 考 察

Lep は AAH よりテロメア長が有意に長く、癌化した時点からテロメア長を維持する機構が働いている可能性が考えられた。さらに、発生母地を含めたテロメア長の比較から、喫煙者では末梢型 ADC の発生母地となる CC に癌化する前からテロメア長の短縮が生じていることが示唆された。

非喫煙者の背景肺では、呼吸細気管支を構成する CC、CEC、BC のいずれの上皮細胞においても、加齢によるテロメア長の短縮が認められ、これは他の臓器や構成細胞で報告されたのと同様の結果を示した。

末梢型 ADC の発癌機序が喫煙者と非喫煙者とでは異なることが推察されており、ADC 症例の両者の間における発生母地のテロメア長の違いはその一端を示しているのかもしれない。

5 結 論

肺腺癌の Adenoma-carcinoma sequence においては、癌化した時点からテロメア長の延長がみられた。末梢型 ADC の発生母地となる CC において、喫煙者ではテロメア長の短縮が生じていた。非喫煙者では加齢によるテロメア長の短縮がみられた。