

低コスト低リスクでの肺癌早期発見を目指した 気道上皮におけるエピジェネティクス異常の解析

国立病院機構 呉医療センター・中国がんセンター
呼吸器外科医員 原田 洋明

(共同研究者)

呉医療センター・中国がんセンター 臨床研究部 室長 宮本 和明
呉医療センター・中国がんセンター 呼吸器外科 科長 山下 芳典
健康保険 人吉総合病院 病院長 木村 正美

はじめに

肺癌は臓器別がん死亡の第一位であり、この不良な治療成績を改善するには早期発見が最大の課題である。肺癌の発症機構には遺伝的要因や環境要因が複雑に関与しているが、喫煙をはじめとする環境要因は肺組織のみならず口腔内など気道全域に影響を及ぼしていると推測される。癌発生の主たるメカニズムであり、環境因子による影響を強く受けるエピジェネティックな異常（DNAメチル化）を、肺癌組織だけでなく口腔粘膜において解析を行った。本検討により低コスト低リスクで肺癌発生の高リスク群検出の指標となる分子生物学的マーカーの同定につながる可能性がある。

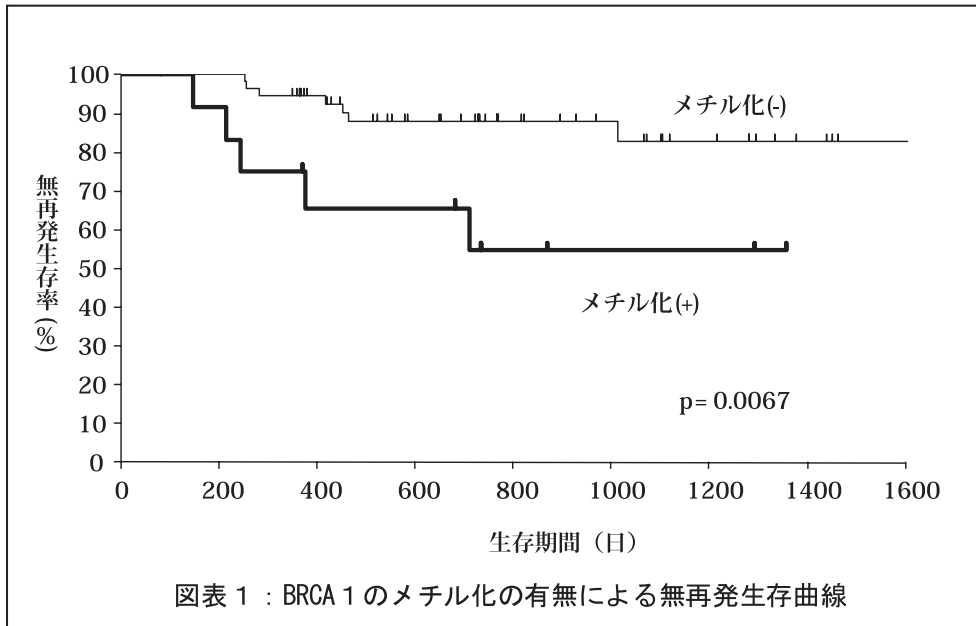
結果

1) 手術標本を用いた解析

過去の肺がん手術摘出標本より DNA を採取し、これまでに肺癌領域でほとんど解析されていない遺伝子について独自の解析をおこなった。網羅的遺伝子解析から、がん抑制遺伝子で家族性乳がんの原因遺伝子である Breast Cancer Susceptibility Gene 1 (BRCA1) のメチル化異常が病理病期 1 期の原発性肺がん完全切除例における予後と関連することを発見した。病理病期 1 期肺がん完全切除例の無再発生存曲線を示す (図表 1)。BRCA1 のメチル化有無による 2 群間で無再発生存期間において統計学的有意差を認めた。 ($p = 0.0067$)。

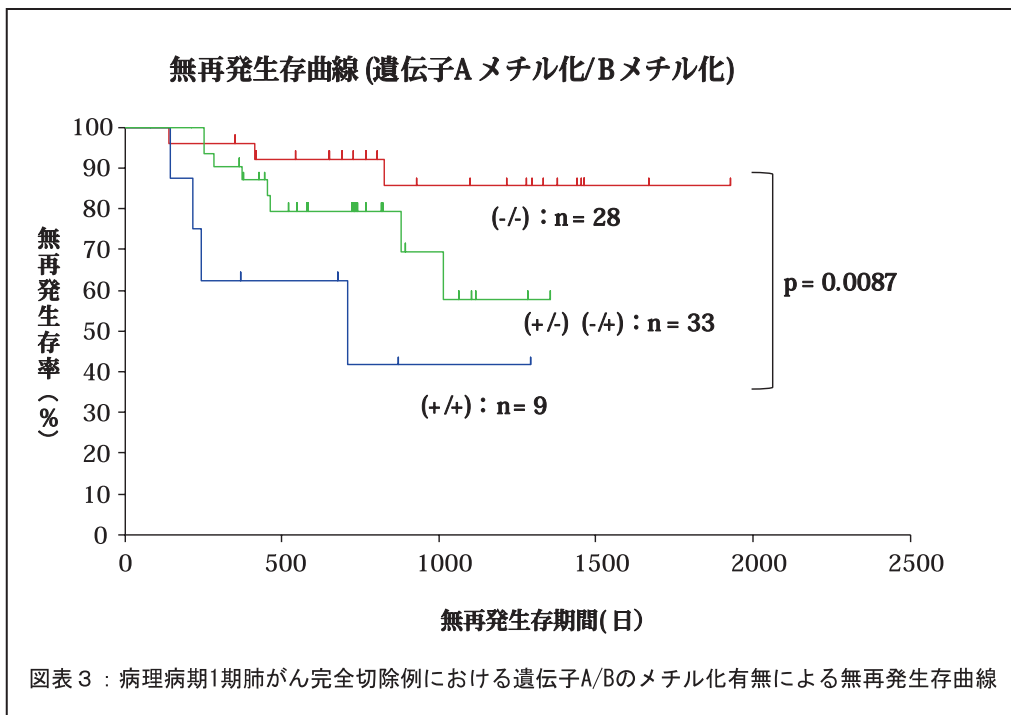
同一対象患者において、さらにさまざまな臨床病理学的パラメーターによる COX 回帰分析を行った。BRCA1 メチル化、COPD 合併、静脈侵襲の有無が、単変量解析において有意な予後危険因子であった。この 3 因子により多変量解析を施行し、BRCA1 が独立した予後危険因子と判定された (図表 2)。

BRCA1 は抗がん剤であるシスプラチンの有効性との関連が報告されている^(文献 1)。シスプラチンは、肺がん術後補助化学療法の中心的薬剤であり、補助化学療法の適応ならびに患者選択においても BRCA1 の評価を行うことは臨床上極めて重要であり、個別化治療につながる可能性を秘めた研究成果



リスク因子	HR	95% CI	p
BRCA1 methylation	3.758	1.306~10.817	0.0141
COPD	1.997	0.671~5.942	0.2137
静脈侵襲	1.644	0.554~4.881	0.3706

図表 2 : 病理病期1期肺がん完全切除例における予後関連因子の多変量解析



と考えられる。この BRCA1 メチル化検出の臨床的意義については、2011 年の日本外科学会総会において、その主旨を発表し、現在論文作成中である。

図表 3 は、ある 2 種類の遺伝子（遺伝子 A / 遺伝子 B）においてメチル化異常と無再発生存曲線の関連を示す。

単一遺伝子の異常のみでは有意な再発リスク因子とならずとも、数種類の遺伝子異常の組み合わせが、病理病期 1 期肺癌完全切除例における予後と関連することも発見した。

一方で早期肺癌において生じている遺伝子メチル化異常の原因の一部が、気道からの化学物質（喫煙や大気汚染など）によるものとする、肺癌組織だけでなく、肺の非がん部や口腔粘膜に至るまでの気道全域に何らかの影響を及ぼしていると推測される。前述の手術検体解析において早期肺癌組織や肺癌患者非がん肺組織において高頻度にメチル化異常を呈した遺伝子をターゲットとし、口腔粘膜を用いた解析をおこなった。

2) 口腔粘膜を用いた解析

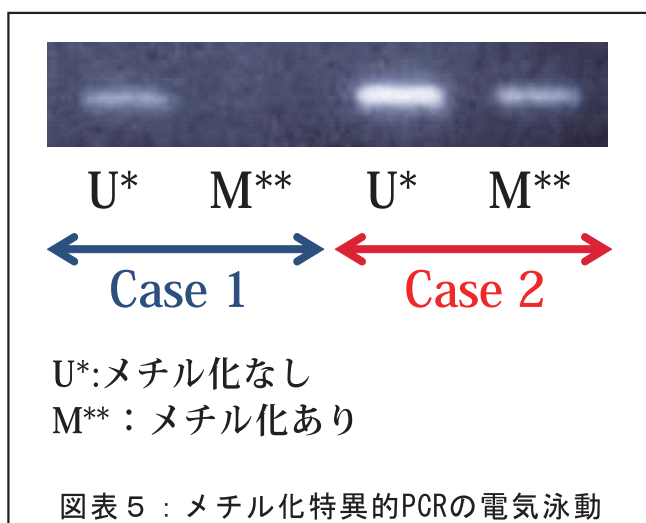
肺癌のため肺切除術を施行された患者（肺癌患者）、肺癌以外の呼吸器疾患で呼吸器手術を施行された患者および一般検診を受診された健常者（非肺癌患者）から、説明同意のもとに口腔粘膜を採取し、DNA を抽出した。これまでに 3 種類の遺伝子（遺伝子 C、D、E）について、肺癌患者と非肺癌患者との間でメチル化の発現頻度に大きな差があることを発見した（図表 4：現在論文作成中）。

	肺癌患者	非肺癌患者
遺伝子C	43.8%	6.3%
遺伝子D	37.5%	6.3%
遺伝子E	25.0%	3.2%

図表 4：口腔粘膜におけるメチル化異常

遺伝子 C について、メチル化特異的 PCR の電気泳動結果を図表 5 に示す。症例 1 は、非肺癌患者であり、口腔粘膜における遺伝子 C のメチル化が陰性であった。一方、症例 2 は肺癌患者であり、口腔粘膜における遺伝子 C のメチル化が陽性であることを示している。

口腔粘膜において上述 3 種類の遺伝子のメチル化異常と肺癌との関連について、メチル化異常を呈した遺伝子の種類の数を評価した（図表 6）。口腔粘膜で 2



メチル化遺伝子の種類	肺がん患者	非肺がん患者
0	12.5%	87.5%
1	57.1%	42.9%
2	85.7%	14.3%
3	100.0%	0.0%

図表 6 : 口腔粘膜におけるメチル化遺伝子の種類

種類の遺伝子にメチル化異常が認められる場合、85.7%が肺がん患者である一方、非肺がん患者は14.3%に過ぎなかった。また3種類いずれもメチル化異常を認めない症例において肺がん患者は12.5%であり、非肺がん患者が87.5%を占めた。

考察

肺がんにおける遺伝子メチル化異常の臨床的有用性について以下の2点に注目し解析をおこなった。

- ① 早期肺がんの再発リスク因子となる分子生物学的マーカー
- ② 肺がん発生高リスク群の同定につながる口腔粘膜の異常

肺がん患者において、臨床的に早期病変と判断され完全切除術がなされても術後比較的短期間で再発する症例が少なくない。完全切除後における術後補助化学療法の意義について多くの報告があるが、ステージ分類のみで対象者を選別しているのが現状である^(文献2)。早期肺がんのリスク因子となりうる生物学的悪性度を反映した分子生物学的マーカーが同定されれば、術後補助療法の対象患者のより正確な選別につながる。さらに抗がん剤の感受性と関連ある遺伝子において解析がなされれば、治療薬そのものの選択もふくめて、個別化治療への道を切り開く可能性がある。われわれが行ったBRCA1の解析結果は、早期肺がんの予後因子としての臨床的意義のみならず、術後補助療法の患者選択および薬剤選択において重要な発見といえる。

肺がん発生高リスク群を口腔粘膜の解析によって同定する試みは、過去に極めて限られた報告がなされたのみである^(文献3)。われわれは、肺がん患者と非肺がん患者の2群間で、発がん早期に関与すると考えられている3種類の遺伝子において、口腔粘膜のメチル化発現頻度に大きな差を認めることを発見した。肺癌は自覚症状に乏しいうえ進行も早く、発見時既に進行がんである確率が高く治療成績は厳しい。早期発見は肺癌診療における大きな課題であるが、胸部レントゲンと痰の細胞診による検診の効果は過去の研究で否定的であり、CT検診もコストや被爆量の問題も含め、有用性については議論の余地を残す^(文献4)。肺癌発生の高リスク群を選定しうる分子生物学的マーカーを確立することができれば、CTやPET検診などと連動し、早期肺癌患者の発見に大きく寄与することが期待される。

しかも低リスクで採取な口腔粘膜を解析することで肺がん発生高リスク群が同定できれば、この高リスク群を対象とした社会的に低コストで効率的な検診システムの構築につながる可能性がある。

参考文献

- 1) Horiuchi A. et al. BRCA1 Expression is an Important Biomarker for Chemosensitivity: Suppression of BRCA1 Increases the Apoptosis via Up-regulation of p53 and p21 During Cisplatin Treatment in Ovarian Cancer Cells. Biomarker insights 1; 49-59, 2007
- 2) Pisters KM. et al. Cancer Care Ontario and American Society of Clinical Oncology adjuvant chemotherapy and adjuvant radiation therapy for stages I-IIIa resectable non small-cell lung cancer guideline. J Clin Oncology. 25 (34) ; 5506-18, 2007
- 3) Manisha Bhutani, et al. Oral epithelium as a surrogate tissue for assessing smoking-induced molecular alterations in the lungs. Cancer Prevention Research 1; 39~44, 2008,
- 4) Infante M. et al. A Randomized Study of Lung Cancer Screening with Spiral Computed Tomography. Am J Respir Crit Care Med. 180; 445-453, 2009