

(様式4)

学 位 論 文 の 内 容 の 要 旨

田 中 和 美 印

(学位論文のタイトル)

Prognostic significance of aromatase and estrogen receptor beta expression in *EGFR* wild-type lung adenocarcinoma

(EGFR野生型肺腺癌におけるアロマトラーゼとエストロゲン受容体 β の発現の意義)

(学位論文の要旨)

【はじめに】世界的に肺癌は男女共に癌死の最大の原因の1つであり、現在もなお、死亡数は年々増加の一途をたどっている。喫煙は肺癌のリスクファクターとして広く知られているが、近年、特に非喫煙者の女性における肺腺癌が増加しており、一部の肺癌ではその発育・進展への estrogen pathway の関与が報告されている。一方、肺腺癌の約40%では上皮成長因子受容体 (EGFR) に変異が認められ、変異陽性の肺癌にはチロシンキナーゼ阻害剤であるゲフィチニブ (イレッサ) の奏効率が高いことが知られている。さらに肺腺癌におけるEGFR変異陽性率は、アジア人の非喫煙者女性では60%以上と特に高いことが知られている。そこで我々は、生体内のエストロゲン合成経路における律速酵素であるアロマトラーゼに着目し、肺腺癌におけるアロマトラーゼ、エストロゲン受容体($ER\alpha$, $ER\beta$), プロゲステロン受容体(PR)の発現を調べ、その相互関係を検討した。さらにアロマトラーゼの発現とEGFR遺伝子変異を含む臨床病理学的因子との関連を検討するとともに、アロマトラーゼが肺腺癌の予後に与える影響についても解析した。

【対象と方法】2004年1月～2008年12月に当科で手術を行った肺腺癌150例を対象とした。アロマトラーゼ、 $ER\alpha$ 、 $ER\beta$ 、PR、Ki-67、HER2の発現はそれぞれ免疫染色法(IHC)で解析した。 $ER\alpha$ 、 $ER\beta$ 、PRの発現は、1000個以上の細胞の核、アロマトラーゼの発現は1000個以上の細胞の細胞質において10%以上陽性のものを「陽性」とした。 $ER\beta$ とアロマトラーゼの発現は染色強度から-、1+, 2+, 3+の4段階で評価した。Ki-67については、増殖能の指標である1000個以上の細胞におけ

る核の陽性率をKi-67 labeling index (Ki-67 LI)として算出した。HER2は、DAKO HercepTest scoring system (DakoCytomation)に従い、2+以上を陽性とした。また肺腺癌における主要な遺伝子変異として、EGFR, KRAS変異をシーケンシング方で解析し、臨床病理学的因子とともに、アロマターゼの発現の有無との関連を比較検討した。予後解析は、Kaplan-Meier法を用いて単変量解析を、Cox比例ハザードモデルを用いて多変量をそれぞれ行った。

【結果】

- ① 免疫組織学的解析：肺腺癌におけるアロマターゼ, ER α , ER β , PR, HER2それぞれの陽性率は88.0%, 1.3%, 79.3%, 2.7%, 4.7%であった。アロマターゼの発現は、18例がスコア0(12.0%)、60例が1+(40.0%)、51例が2+(34.0%)、21例が3+(14.0%)であった。そこで、スコア0, 1+の78例を低発現群(52.0%)、2+, 3+の72例を高発現群(48.0%)と定義した。ER β の発現については、31例がスコア0(20.7%)、98例が1+(65.3%)、18例が2+(12.0%)、3例が3+(2.0%)であった。ER β の染色は核と細胞質両方に見られ、陽性例では全て腫瘍細胞のほとんどが染色されていたことから、Allredスコアによるスコア化は行わなかった。
- ② アロマターゼ、ER β の発現と、EGFR, KRAS変異を含む臨床病理学的因子との関係：150例中10例は、腫瘍が小さくDNAの抽出が困難であったため、EGFR, KRAS変異解析は140例で行った。EGFR変異は62例(44.3%)に、KRAS変異は23例(16.4%)にそれぞれ認め、両者は排他的であった。アロマターゼは胸膜浸潤との間には有意な相関が認められた($p=0.037$)のみであり、ER β と他の因子の間に相関は認めなかった。
- ③ 予後解析：Overall Survival (OS)では、アロマターゼ高発現は、有意な予後不良因子であった($p=0.013$)。ER β と予後との間には有意な相関は認めなかった。Recurrence-free Survival (RFS)では、アロマターゼ及びER β の発現と予後との間に有意な相関は認めなかった。
- ④ 遺伝子変異の有無による予後解析：EGFR野生型群においては、OS, RFS共にアロマターゼ高発現群は予後不良因子であった($p=0.019, 0.020$)。ER β 発現もRFSで予後不良因子であった($p=0.022$)。さらに、アロマターゼ高発現かつER β 陽性群はアロマターゼ低発現かつER β 陰性群に比べ、OS, RFS共に予後不良であった($p=0.004, 0.002$)。EGFR変異型群において、また

KRAS変異の有無別の解析においては、アロマターゼ、ER β の発現と予後に明らかな相関は認めなかった。

- ⑤ EGFR野生型群における男女別の予後解析：EGFR野生型群78例において、アロマターゼ、ER β と予後との関係を男女別に解析した。すると、アロマターゼの高発現は、女性においてのみ有意に予後不良であり(p=0.007)、一方でER β 発現は、男性においてのみ予後不良の傾向があった(p=0.051)。

【考察】以上の結果から、肺腺癌においては腫瘍細胞内に発現するアロマターゼによって産生されるエストロゲンが、ERbを介して腫瘍の発育進展に関与していることが示唆された。EGFR変異は、EGFR pathwayを非常に強く活性化することが知られており、EGFR mutantを解析から除くことで、マスクされていたestrogen pathwayの影響が明らかになったものと考えられる。また、男女において予後に違いが見られたことについては、女性では今回の解析に用いたほとんどの症例が閉経後の症例であり、閉経により体内のエストロゲンが枯渇状態になったことで、腫瘍細胞のestrogen pathwayが機能するためには腫瘍自体がアロマターゼを発現してエストロゲンを供給する必要があったのではないかと考えられる。これに対し男性では、一生を通じて体内のエストロゲン量はそれほど変化しないため、腫瘍へのエストロゲンの供給も安定しており、このため受容体の発現量が重要になるのではないかと考えた。

【まとめ】アロマターゼとER β の発現は、EGFR野生型肺腺癌において予後不良因子であり、EGFR野生型肺腺癌はエストロゲン依存性のがんの1つであることが示唆された。