

乳癌歴患者に発生した肺腫瘍（腺癌）の組織学的鑑別における

Thyroid Transcription Factor-1 (TTF-1) の有用性

吉澤 潔¹・吉田卓弘²・中川靖士²・三浦一真²・
森田純二²・荻野哲朗³・瀬津弘順⁴

要旨 **目的**．乳癌の治療歴を有する患者においては、しばしば乳癌の肺転移と原発性肺腺癌との鑑別が困難なことがある．Thyroid Transcription Factor-1 (TTF-1) が両者の鑑別に有用であるか否かを免疫染色によって検証した．**対象および方法**．乳癌の既往歴を有する患者から 11 例の肺腺癌組織標本が得られた．病理学的診断は H-E 染色によってなされていた．肺腫瘍と乳癌標本の切片に TTF-1 と Estrogen Receptor (ER) のモノクロナル抗体を用いた免疫染色を行った．肺腫瘍には 10 例の乳癌肺転移と 1 例の原発性肺腺癌が含まれていた．8 例においては乳癌原発巣についても同様の方法の検索が行われた．**結果**．TTF-1 は 10 例の転移性肺腫瘍では全て陰性であり、原発性肺癌と診断された 1 例のみが陽性であった．一方、ER は原発性肺癌の病巣では陰性で、乳癌の肺転移 10 例のうち 8 例で陽性であった．転移性肺腫瘍で、ER が陰性であった 2 例では乳癌原発巣もまた陰性であった．この検索方法は肺腫瘍の生検組織にも用いることができた．**結論**．TTF-1 抗体と ER 抗体を用いた免疫染色は原発性肺腺癌と乳癌肺転移を鑑別するために有用である．(肺癌．2002;42:105-111)

索引用語 Thyroid transcription factor-1 (TTF-1), エストロゲンレセプター (ER), 転移性肺腫瘍, 乳癌, 肺癌

Usefulness of Thyroid Transcription Factor-1 (TTF-1) in Pathological Differentiation of Lung Tumor (Adenocarcinoma) Developed in Patients With a History of Breast Carcinoma

Kiyoshi Yoshizawa¹; Takahiro Yoshida²; Yasushi Nakagawa²; Kazumasa Miura²; Junji Morita²; Tetsurou Ogino³; Kojun Setsu⁴

ABSTRACT **Objective.** It is usually difficult to distinguish between breast carcinomas metastatic to the lung and primary pulmonary adenocarcinomas in patients with a past history of breast cancer. Immunohistochemical examination was performed to evaluate whether thyroid transcription factor-1 (TTF-1) was useful in distinguishing between breast carcinomas metastatic to the lung and primary pulmonary adenocarcinomas. **Subjects and Methods.** Eleven specimens of pulmonary adenocarcinomas obtained from patients with a past history of breast cancer were studied. Pathological diagnosis was evaluated morphologically by hematoxylin-eosin staining. Sections of pulmonary tumors and breast carcinoma specimens were immunohistochemically stained with monoclonal anti-TTF-1 antibody or monoclonal anti-estrogen receptor (ER) using the avidin-biotin immunoperoxidase technique. Pulmonary tumors included 10 metastatic adenocarcinomas from the breast and one primary pulmonary adenocarcinoma. In 8 cases the original breast can-

高松赤十字病院 ¹呼吸器外科, ²外科, ³病理部; ⁴徳島文理大学薬学部機能形態学.

別刷請求先: 吉澤 潔, 高松赤十字病院呼吸器外科, 〒760-0017 高松市番町4丁目1-3 (e-mail: yoshizawa-ths@umin.ac.jp).

Department of ¹Chest Surgery, ²Surgery, and ³Pathology, Takamatsu Red Cross Hospital, Japan; and ⁴Laboratories for Structure

and Function Research, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokushima Bunri University, Japan.

Reprints: Kiyoshi Yoshizawa, Department of Chest Surgery, Takamatsu Red Cross Hospital, 4-1-3 Ban-cho, Takamatsu-shi, Kagawa 760-0017, Japan (e-mail: yoshizawa-ths@umin.ac.jp)

Received November 12, 2001; accepted February 7, 2002.

© 2002 The Japan Lung Cancer Society

cer specimens were also examined in the same manner. **Results.** None of the 10 metastatic tumors showed immunoreactivity for TTF-1, and one pulmonary adenocarcinoma was positive. On the other hand, for ER, 8 of the 10 metastatic lung tumors were positive and one primary lung cancer was negative. In two cases whose metastatic carcinoma showed negative reactivity for ER, the original breast carcinomas were also negative for ER. These studies could be used for biopsy specimens from lung tumors. **Conclusion.** The use of antibody staining for TTF-1 and ER might help to distinguish adenocarcinomas of the lung from others arising in the breast. (*JJLC.* 2002;42:105-111)

KEY WORDS Thyroid transcription factor-1(TTF-1), Estrogen receptor(ER), Metastatic lung tumor, Breast cancer, Lung cancer

はじめに

乳癌を原発とする転移性肺腫瘍の中には転移病巣が原発性肺癌の組織像と酷似しており、鑑別が困難な症例が少なくない。また、Disease Free Interval(以下DFIと略す)がきわめて長く、そのために原発巣の組織標本が入手できず、肺腫瘍との比較ができない症例などを経験することがある。病理組織診断上、乳癌の肺転移であることを裏付けるためには、HE染色のほかに、Estrogen Receptor抗体(以下ERと略す)などを用いた免疫染色によって傍証を得ることができるが、画像診断と術前の生検材料での鑑別は困難とされている。³

最近、Thyroid Transcription Factor 1(以下TTF-1と略す)が注目されている。これは、甲状腺、肺、間脳に特異的に発現する転写因子で、原発性肺癌のうち腺癌と小細胞癌、そして甲状腺癌には認められるが、肺における他臓器からの転移性腫瘍では検出されないといわれている。^{4,5}

したがって、肺腺癌に特異性の高いTTF-1抗体と乳癌の特異マーカーとしてのER抗体を用いた免疫染色を併

用すれば、乳癌肺転移と原発性肺癌との鑑別をより正確に行いうると考えられる。当科で経験した、乳癌術後、肺腫瘍切除症例にこれらの免疫染色を行ってその有用性を検証した。

対象と方法

対象として、乳癌の既往を有する症例で、当科において肺悪性腫瘍の切除手術を行った11例を用いた。

肺腫瘍の術後診断は転移性肺腫瘍とされているものが10例、原発性肺癌と診断されたものが1例であった。これらから得られたパラフィン包埋切片に対し、pressure cookerもしくはautoclaveによる熱賦活処理を行い、ER抗体とTTF-1抗体による酵素抗体法を実施した。ER抗体はDAKO社製 Monoclonal Mouse Anti-Human Estrogen Receptor, 1D5を使用し、TTF-1抗体はDAKO社製、Monoclonal Mouse Anti-Thyroid Transcription Factor, TTF-1を使用した。

Table 1は個々の症例についてそのDFIと乳癌および肺腫瘍の組織型を比較したものである。DFIは1年6カ月から30年10カ月におよび、平均12年3カ月であっ

Table 1. Clinical and pathological characteristics of the patients with a history of breast cancer

Diagnosis of Lung Tumor	case	DFI	Histology of Breast Cancer	Histology of Lung Tumor
Metastatic Breast Tumor	1	2y11m	mucinous	mucinous
	2	4y8m	papillary	papillary
	3	18y9m	mucinous	mucinous
	4	5y4m	papi-tub+muci	papi-tub+muci
	5	4y6m	tubular	tub+muci
	6	10y1m	scirrhous	tubular
	7	1y6m	papillary	papillary
	8	15y	unknown	mucinous
	9	30y10m	unknown	tubular
	10	8y	unknown	papillary
Primary Lung Cancer	11	3y8m	tubular	papillary

DFI indicates disease free interval; and papi-tub+muci, papillo-tubular+mucinous.

Table 2. Immunoreactivity of metastatic breast adenocarcinoma and primary pulmonary adenocarcinoma

Diagnosis of Lung Tumor	case	Breast Cancer		Lung Tumor	
		ER	TTF-1	ER	TTF-1
Metastatic Breast Tumor	1	+	-	+	-
	2	-	-	-	-
	3	+	-	+	-
	4	+	-	+	-
	5	+	-	+	-
	6	+	-	+	-
	7	-	-	-	-
	8	ND	ND	+	-
	9	ND	ND	+	-
	10	ND	ND	+	-
Primary Lung Cancer	11	+	-	-	+

ND indicates not done.

た．乳癌肺転移と診断された症例のうち乳癌の原発巣と肺腫瘍の両方の標本が得られたものは7例であった．乳癌の組織標本が得られなかった3症例は、DFIが非常に長いものや、国外で手術を受けたものであった．これら肺腫瘍と乳癌原発巣との比較ができない症例では肺腫瘍のHE染色とER抗体を用いた酵素抗体法で乳癌肺転移との診断が付けられていた．

原発性肺癌と診断された1症例は乳癌術後3年8カ月後に胸部検診にて発見され、乳癌組織と肺腫瘍の組織型

が明らかに異なっていた．

結果

それぞれの腫瘍組織におけるERとTTF-1による免疫染色の結果をTable 2に示した．乳癌の肺転移と診断されている10症例のうち、乳癌の組織標本が得られた7例においては乳癌と肺腫瘍のERおよびTTF-1は完全にpararelな染色結果が得られた．すなわち、7例中5例でER抗体は乳癌、肺腫瘍ともに陽性であり、TTF-1抗体は両者ともに陰性であった(Figure 1)．残る2例は乳癌原発巣および肺腫瘍ともにER抗体が陰性であった(Figure 2)．TTF-1抗体はこの症例でも両者ともに陰性であった．また、乳癌組織が得られなかった3例ではともに、肺腫瘍においてER抗体陽性、TTF-1抗体陰性であり、乳癌肺転移という診断に矛盾しない染色結果となった(Figure 3)．

一方、肺腫瘍が原発性肺癌と診断された症例では、乳癌組織と肺腫瘍のER、TTF-1はそれぞれ逆の染色態度を示した．すなわち、乳癌原発巣のERは陽性、肺腫瘍はER陰性、乳癌原発巣はTTF-1陰性であるのに対して、肺腫瘍はTTF-1陽性であった(Figure 4)．これも診断結果の正当性を裏付ける結果となった．

気管支鏡下肺生検による生検標本が得られた1例に対してER抗体とTTF-1抗体による免疫染色を行った結果、十分に判定可能であった(Figure 5)．

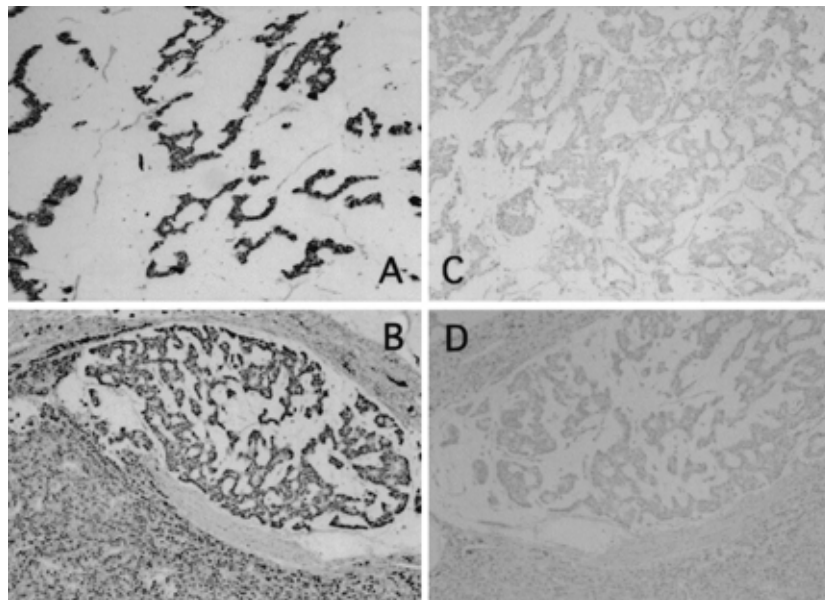


Figure 1. Immunostaining for ER is strongly positive in both the breast carcinoma (A) and metastatic lung tumor (B) but for TTF-1, negative in both the primary breast carcinoma (C) and metastatic lung tumor (D)

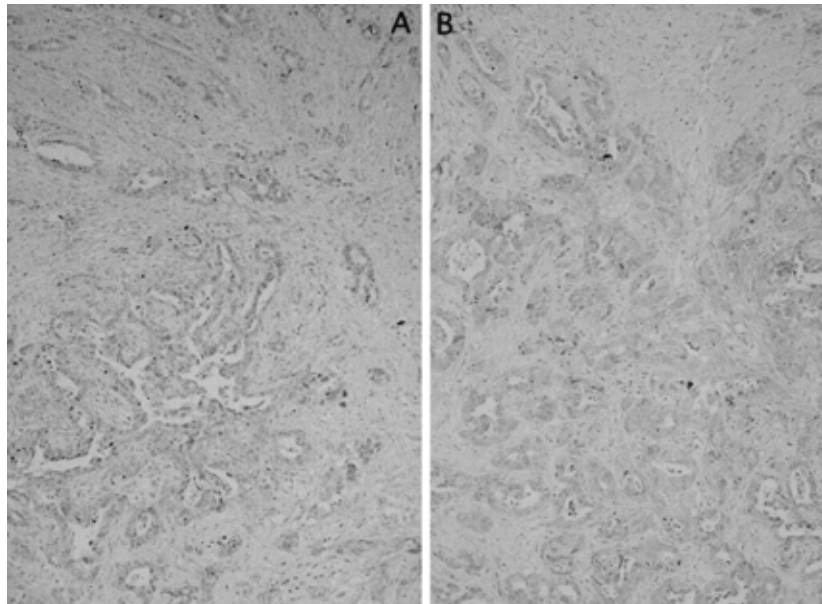


Figure 2. The primary breast carcinoma does not express ER (**A**), the metastatic lung tumor is also negative for ER (**B**)

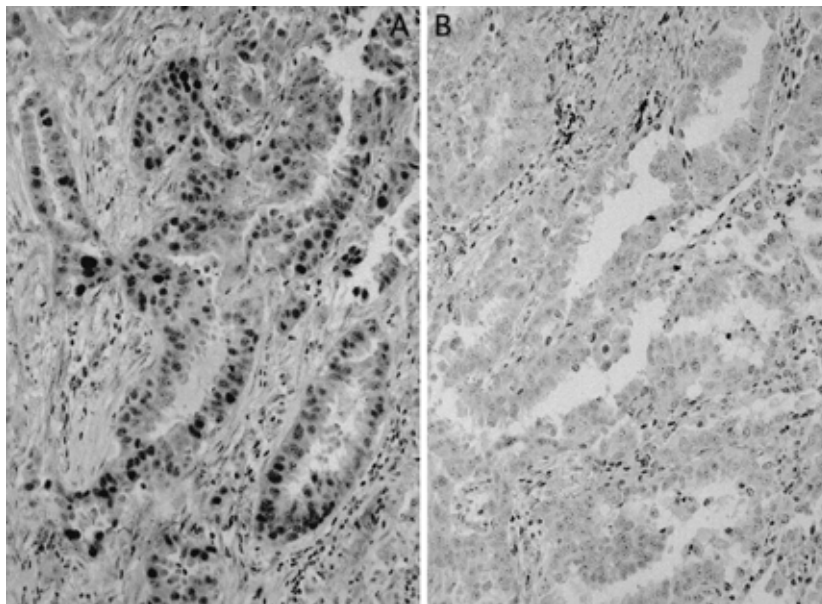


Figure 3. In three cases the primary breast carcinoma specimen could not be obtained. In these cases metastatic lung tumors were positive for ER (**A**), and negative for TTF-1 (**B**)

考 察

乳癌は長い natural history を有する症例が多く、10年以上の期間を経て他臓器に転移をきたすことも稀ではない。今回の症例も平均 DFI は 12 年 3 カ月に及んだ。一方、女性の肺癌は末梢発生の腺癌が多数を占め、わが国においては近年、罹患率、死亡率ともに急増している。

このため、乳癌手術の既往を有する患者に肺腫瘍が発見され、それが腺癌である場合、術後年数が相当長い場合でも乳癌の転移と原発性肺癌の両者を念頭に置いて診断、治療を行わねばならない。しかし、時にその鑑別が困難な場合があり、比較すべき乳癌組織標本が得られない場合はなおさら難しいものとなる。

通常の HE 染色のみでは乳癌との鑑別が困難な場合、

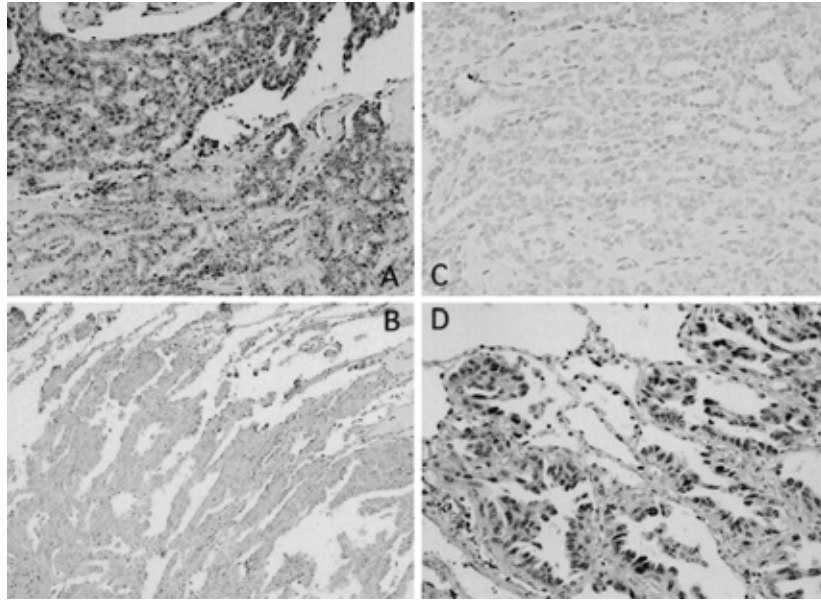


Figure 4. When a lung tumor is diagnosed as primary lung cancer, breast carcinoma is positive for ER (A) and negative for TTF-1 (C). Adenocarcinoma of the lung is negative for ER (B) and positive for TTF-1 (D)

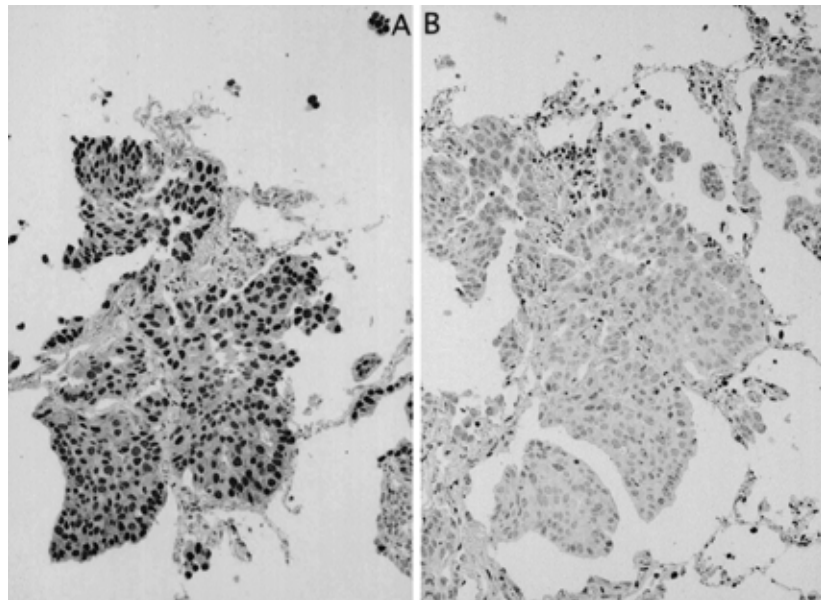


Figure 5. Immunostaining is also available for specimens obtained by transbronchial lung biopsy from a metastatic lung tumor patient. Tumor cells express ER (A) and do not express TTF-1 (B) but peripheral normal pulmonary cells express TTF-1 (B)

ERを用いた免疫染色を補助とすることがある。しかし、乳癌の原発巣がER陰性であれば、肺腫瘍のER染色の結果が陽性の場合以外は鑑別点とはなりにくい。乳癌におけるERの陽性率は55%とされ、われわれの症例でも両者共に陰性のケースが存在した。さらに、原発性肺

癌におけるERの存在が問題になる。原発性肺癌におけるER陽性率は6~67%⁹⁻¹¹とばらつきが大きく、臨床的な意義については確立していない。したがって、ER単独では鑑別の根拠にはなり得ないと考えられる。近年、CA15-3やGCDFP-15が乳癌の特異マーカーとして転移性

乳癌の検出における有用性を論議されている¹²が、原発性肺癌の陽性例が比較的多く存在することから肺においては決定的な鑑別点とはいえない。¹³

TTF-1は1989年、Civitarealeら⁴によって発見された371のアミノ酸からなる蛋白質である。当初、甲状腺に特異的に発現する転写因子であるとされたが、肺と脳の一部にも発現することが明らかになった。¹⁴肺組織においてはII型肺胞上皮細胞やClara細胞に発現し、surfactant proteins AおよびB(SPA及びSPBと略す)などの肺特異的サーファクタント蛋白質の転写の活性化を担っていることが報告されている。¹⁵TTF-1は臓器特異性が極めて高く、TTF-1発現が肺および甲状腺由来の腫瘍を同定するために有効なことが相次いで報告されている。^{16,17}肺癌における陽性率は腺癌で63~83%¹⁷⁻²⁰、扁平上皮癌で0~11%¹⁷⁻²⁰と報告されている。神経内分泌細胞での陽性率が高く、小細胞癌の80~97%²¹⁻²³、大細胞神経内分泌癌の50~75%²¹⁻²³などとなっている。肺原発腫瘍と転移性肺腫瘍の鑑別にも利用され始めているが、小細胞癌においては膀胱や膵臓由来のものにも陽性例があり臓器特異性が低いので注意が必要である。⁵腺癌では今のところ甲状腺癌以外に高い陽性率を示す臓器は報告されておらず、利用価値は高いと考えられる。^{20,21}前記のSPAやSPBも同目的で使用されているが、TTF-1の方がsensitivityが高い。¹⁷

今回のわれわれの検討では乳癌の肺転移と診断された腫瘍組織は全てTTF-1が陰性であり、肺癌と診断された組織では陽性であった。乳癌組織には陽性例はなかった。きわめてclear cutな結果であり、肺腫瘍のTTF-1による免疫染色が可能であれば乳癌の肺転移と原発性肺癌は容易に鑑別し得ると考えられた。ただし、肺腺癌のうち、tubular typeはpapillary typeに比べると陽性率が低いといわれており、¹⁷今回の乳癌症例の中にはsolid-tubular typeの症例が含まれなかったため、鑑別に困難を感じることはなかったが、今後の検討課題である。

TTF-1やSPA、SPBは肺癌の特異マーカーであり、ERやCA15-3、GCDFP-15などは乳癌の特異マーカーである。原発性肺癌と乳癌肺転移の鑑別にはこれらを組み合わせたcombination assayを行うことで、より高い精度が期待できると考えられる。すなわち、乳癌歴を有する患者の肺腫瘍(腺癌)組織においてTTF-1が(-)でERが(+)であればまず乳癌の肺転移であり、TTF-1が(+)であればERの如何に関わらず肺癌である。乳癌にTTF-1(+)はあり得ない。²⁰ERもTTF-1も(-)の場合、ER(-)乳癌の肺転移の可能性が大であるが、肺組織がtubular typeの場合は他の乳癌もしくは肺癌マーカーについても検討する余地がある。

本論文の要旨は第41回日本肺癌学会総会(東京)において

発表した。

REFERENCES

1. 奥村 栄, 中川 健. 転移性肺癌の診断. 臨外. 1997;52:25-30.
2. 前原信直, 今井茂樹, 梶原康正, 他. 術後29年で再発した乳癌胸膜転移の1例. 乳癌の臨床. 1999;14:405-408.
3. 土屋了介. 転移性肺癌の治療選択. 臨外. 1997;52:39-42.
4. Civitareale D, Lonigro R, Sinclare AJ, et al. A thyroid-specific nuclear protein essential for tissue-specific expression of the thyroglobulin promoter. *EMBO J.* 1989;8:2537-2542.
5. Oliveira M, Tazelaar H, Myers J, et al. Thyroid transcription factor-1 distinguishes metastatic pulmonary from well-differentiated neuroendocrine tumors of other sites. *Am J Surg Pathol.* 2001;25:815-819.
6. 岩瀬拓士, 中川 健, 土屋繁裕, 他. 長期予後から見た乳癌肺転移症例の検討. 乳癌の臨床. 1994;9:4-12.
7. 松本彦秀, 小川洋樹, 豊山博信, 他. 手術成績からみた女性肺癌の臨床的検討. 肺癌. 2001;41:99-104.
8. Nagai R, Kataoka M, Kobayashi S, et al. Estrogen and progesterone receptors in human breast cancer with concomitant assay of plasma 17beta-estradiol, progesterone, and prolactin levels. *Cancer Res.* 1979;39:1834-1840.
9. Su JM, Hsu HK, Chang H, et al. Expression of estrogen and progesterone receptors in nonsmall-cell lung cancer: Immunohistochemical study. *Anticancer Res.* 1996;16:3803-3806.
10. Beattie CW, Hansen NW, Thomas PA. Steroid receptors in human lung cancer. *Cancer Res.* 1985;45:4206-4214.
11. Omoto Y, Kobayashi Y, Nishida K, et al. Expression, function, and clinical implications of the estrogen receptor β in human lung cancers. *Biochem Biophys Res. Commun.* 2001;285:340-347.
12. Akasofu M, Kawahara E, Kurumaya H, et al. Immunohistochemical detection of breast specific antigens and cytokeratins in metastatic breast carcinoma in the liver. *Acta Pathol Jpn.* 1993;43:736-744.
13. 長井一信, 土井原博義, 石部洋一, 他. 乳癌術後に切除した単発性肺腫瘍例の免疫組織化学的検討. 乳癌の臨床. 2001;16:142-146.
14. Lazzaro D, Price M, De Felice M, et al. The transcription factor TTF-1 is expressed at the onset of thyroid and lung morphogenesis and in restricted regions of the fetal brain. *Development.* 1991;113:1093-1104.
15. Zang L, Whitsett JA, Stripp BR. Regulation of Clara cell secretory protein gene transcription by thyroid transcription factor 1. *Biochim Biophys Acta.* 1997;1350:359-367.
16. Bejarano PA, Baughman RP, Biddinger PW, et al. Surfactant proteins and thyroid transcription factor-1 in pulmonary and breast carcinomas. *Mod Pathol.* 1996;9:445-452.
17. 石和直樹, 中谷行雄, 稲山嘉明, 他. 原発性肺癌におけるThyroid Transcription Factor-1(TTF-1)発現の免疫組織学的検討. 肺癌. 2001;41:45-49.
18. Khoor A, Whitsett JA, Stahlman MT, et al. Utility of surfactant protein B precursor and thyroid transcription factor 1 in differentiating adenocarcinoma of the lung from malignant mesothelioma. *Hum Pathol.* 1999;30:695-700.

- 19 . Di Loreto C, Di Lauro V, Puglisi F, et al. Immunocytochemical expression of tissue specific transcription factor-1 in lung carcinoma. *J Clin Pathol.* 1997;50:30-32.
- 20 . Kaufmann O, Dietel M. Thyroid transciption factor-1 is the superior immuno-histochemical marker for pulmonary adenocarcinomas and large cell carcinomas compared to surfactant proteins A and B. *Histopathology.* 2000;36:8-16.
- 21 . Byrd-Gloster AL, Khoor A, Glass LF, et al. Differential expression of thyroid transcription factor 1 in small cell lung carcinoma and Merkel cell tumor. *Hum Pathol.* 2000;31:58-62.
- 22 . Folpe AL, Gown AM, Lamps LW, et al. Thyroid transcription factor-1:immunohistochemical evaluation in pulmonary neuroendocrine tumors. *Mod Pathol.* 1999;12:5-8.
- 23 . Kaufmann O, Dietel M. Expression of thyroid transcription factor-1 in pulmonary and extrapulmonary small cell carcinomas and other neuroendocrine carcinomas of various primary sites. *Histopathology.* 2000;36:415-420.