

β カテニン遺伝子に変異が認められた well differentiated fetal adenocarcinoma の 1 例

森 正一¹・関戸好孝²・重光希久生¹・
吉岡 洋¹・今泉宗久¹・下方 薫³

要旨 **背景** . well differentiated fetal adenocarcinoma(W DFA)は稀な原発性肺腫瘍であり , その発癌過程における遺伝子変異の報告はほとんどない . **症例** . 38 歳男性 . 胸部異常影の精査治療を目的に当院を紹介された . 遠隔転移がないことを確認した後 , 左肺上葉切除および縦隔リンパ節郭清術が施行された . 術前の経皮針生検で肺腺癌と診断されたが , 術後の永久組織標本では W DFA と確定された . *p53* 遺伝子 , β カテニン遺伝子 , *KRAS* 遺伝子の変異解析を行ったところ *p53* 遺伝子および *KRAS* 遺伝子には変異は認められなかったが , β カテニン遺伝子エクソン 3 のコドン 37 に TCT (セリン) から TGT (システイン) へのミスセンス変異が認められた . さらに免疫染色でシナプトフィジン , CD56 に陽性を呈し神経内分泌細胞への分化を示した . **結論** . β カテニン遺伝子変異が W DFA の発癌過程に関与している可能性が示唆された . (肺癌 . 2003;43:351-355)

索引用語 肺芽腫 , カテニン , 遺伝子変異 , 免疫組織

A Case of Well Differentiated Fetal Adenocarcinoma With a Mutation of the β -catenin Gene

Shoichi Mori¹; Yoshitaka Sekido²; Kikuo Shigemitsu¹;
Hiromu Yoshioka¹; Munehisa Imaizumi¹; Kaoru Shimokata³

ABSTRACT **Background.** Well differentiated fetal adenocarcinoma(W DFA) is a very rare lung tumor, and there have been very few studies reporting genetic mutations in the development of this type of tumor. **Case.** A 38-year-old man was admitted to our hospital for investigation of an abnormal shadow in the left lung on a chest roentgenogram. After metastasis was ruled out, he underwent left upper lobectomy and mediastinal lymph node dissection. Although the preoperative diagnosis by needle biopsy was adenocarcinoma, pathological examination of the surgical specimen confirmed the diagnosis of well differentiated fetal adenocarcinoma. We performed mutation analysis of the *p53*, *KRAS*, and β -catenin genes and found a missense mutation at codon 37 of the β -catenin gene exon 3, leading to an amino acid substitution of TCT (Ser) to TGT (Cys), but no mutations were present in *p53* or *KRAS*. Furthermore, immunohistochemical analysis detected positive staining of synaptophysin and CD56, indicating that the tumor cells showed neuroendocrine differentiation. **Conclusion.** Our results suggested that a β -catenin gene alteration might be involved in the development of W DFA. (*JJLC*. 2003;43:351-355)

KEY WORDS Lung blastoma, Catenin, Genetic mutation, Immunohistochemistry

名古屋大学 ¹ 医学部胸部外科 , ² 医学部附属病院予防医療部 , ³ 医学部呼吸器内科 .

別刷請求先 : 関戸好孝 , 名古屋大学医学部附属病院予防医療部 , 〒466-8560 名古屋市昭和区鶴舞町 65(e-mail: ysekido@med.nagoya-u.ac.jp) .

Department of ¹Thoracic Surgery, ²Clinical Preventive Medicine, ³Respiratory Medicine, Nagoya University School of Medicine, Ja-

pan.

Reprints: Yoshitaka Sekido, Department of Clinical Preventive Medicine, Nagoya University School of Medicine, 65 Tsurumai, Showa-Ku, Nagoya 466-8560, Japan(e-mail: ysekido@med.nagoya-u.ac.jp)

Received January 17, 2003; accepted June 9, 2003.

© 2003 The Japan Lung Cancer Society

はじめに

肺芽腫 (pulmonary blastoma, 以下 PB) は、極めて稀な腫瘍で一般に悪性の上皮成分および間葉系成分を有する。近年、悪性の上皮成分のみを有するタイプも存在することが明らかとなり pulmonary endodermal tumor resembling fetal lung type, pulmonary adenocarcinoma of fetal type などと呼称されてきたが、1999年のWHO分類では well differentiated fetal adenocarcinoma (以下 WDFA) と分類された。今回我々は、この WDFA の1例を経験し遺伝子変異解析の結果 β カテニン遺伝子に変異を認めたので、肺芽腫における遺伝子変異の文献的考察を加えて報告する。

症 例

症例：38歳，男性。

主訴：胸部異常影。

現病歴：2000年7月の住民検診での胸部X線撮影で異常を指摘され当院を受診した。

既往歴：気管支喘息にて近医で治療中であった。

喫煙歴：20本/日×20年。

家族歴：特記すべきことなし。

入院時現症：身長 174 cm, 体重 54 kg, 心拍数 60 回/分 (整), 血圧 94/64 mmHg, 体表リンパ節触知せず。

入院時検査所見：末梢血および生化学検査に異常を認めず。CEA, NSE, CYFRA, AFP などの腫瘍マーカーも正常範囲内であった。

胸部単純X線所見：左中肺野に境界明瞭な 1.5 cm 大の腫瘍影を認めた (Figure 1A)。

胸部 CT 所見：左 S⁴ に 1.3×1.3 cm の石灰化を伴わない境界明瞭な腫瘍を認めたが (Figure 1B), 造影はされなかった (Figure 1C)。

入院後経過：気管支鏡下肺生検で診断が確定しなかったため経皮針生検を施行したところ腺癌の診断を得た。全身検索にて他臓器への転移もなく cT1N0M0 stage IA にて同年9月29日に左上葉切除, 縦隔リンパ節郭清 (ND 2a) を施行した。

切除標本：黄白色で境界明瞭な壊死を伴わない腫瘍が S⁴ に存在し, 大きさは 1.2×1.2×1.0 cm であった (Figure 2)。

病理組織標本：円柱状の比較的単一の腫瘍細胞が胎児肺類似の腺管形成様の増殖をなしていた (Figure 3)。腫瘍細胞の大きさはほぼ揃っており胞体は淡好酸性であるが, 淡明なところが存在するのが特徴的であった。また,

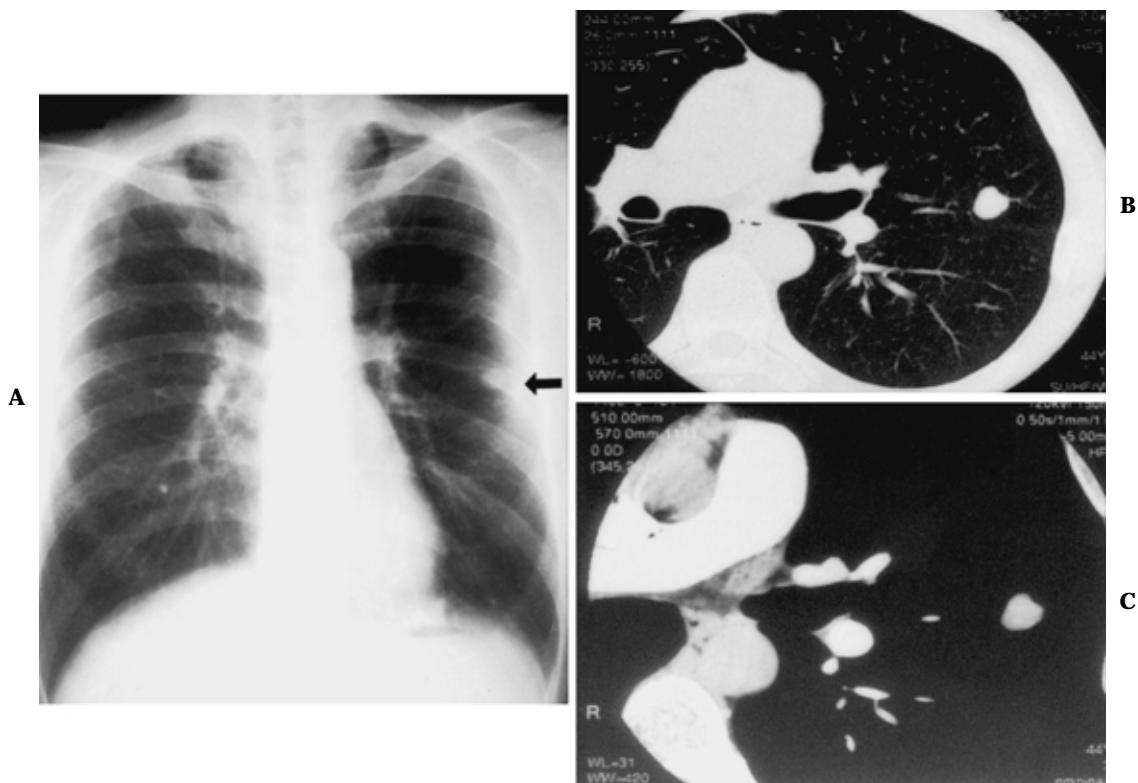
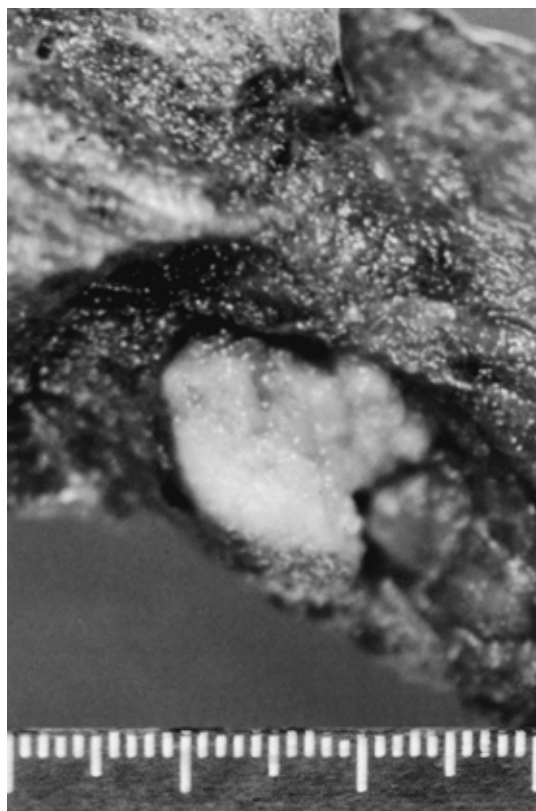


Figure 1. Chest roentgenogram (A) and chest computed tomogram (B, C) A mass without calcification was observed in S⁴ of the left lung.



随所にシート状の腫瘍細胞の増殖巣 (morule) が認められた。一方、間質成分はほとんど認められなかった。

免疫組織化学染色 (ポリマー法): 腫瘍細胞は上皮性マーカーおよび、神経内分泌 (NE) マーカーのシナプトフィジン (A0010, Dakocytomation) (Figure 4), クロモグラニン A (A0430, Dakocytomation), CD56 (NCL-L-CD56-1B6, Novocastra Laboratories) に morule を中心に陽性を示した。

以上より肉腫成分を伴わない肺芽腫, いわゆる W DFA で pT1N0M0 stage IA と診断された。

分子生物学的解析: 名古屋大学医学部倫理委員会にて承認を受けた遺伝子解析研究プロトコールに従い, 術前に本患者より文書同意を得た。切除後の凍結標本より, genomic DNA を抽出し, *p53* 遺伝子のエクソン 2 から 11 を single-strand conformation polymorphism analysis (以下 SSCP 法) で, β カテニン遺伝子エクソン 3, *KRAS* 遺伝子エクソン 2, 3 を SSCP 法および direct sequence

Figure 2. Macroscopic findings. The resected tumor was 1.5 × 1.5 cm, whitish-gray, and well-circumscribed.

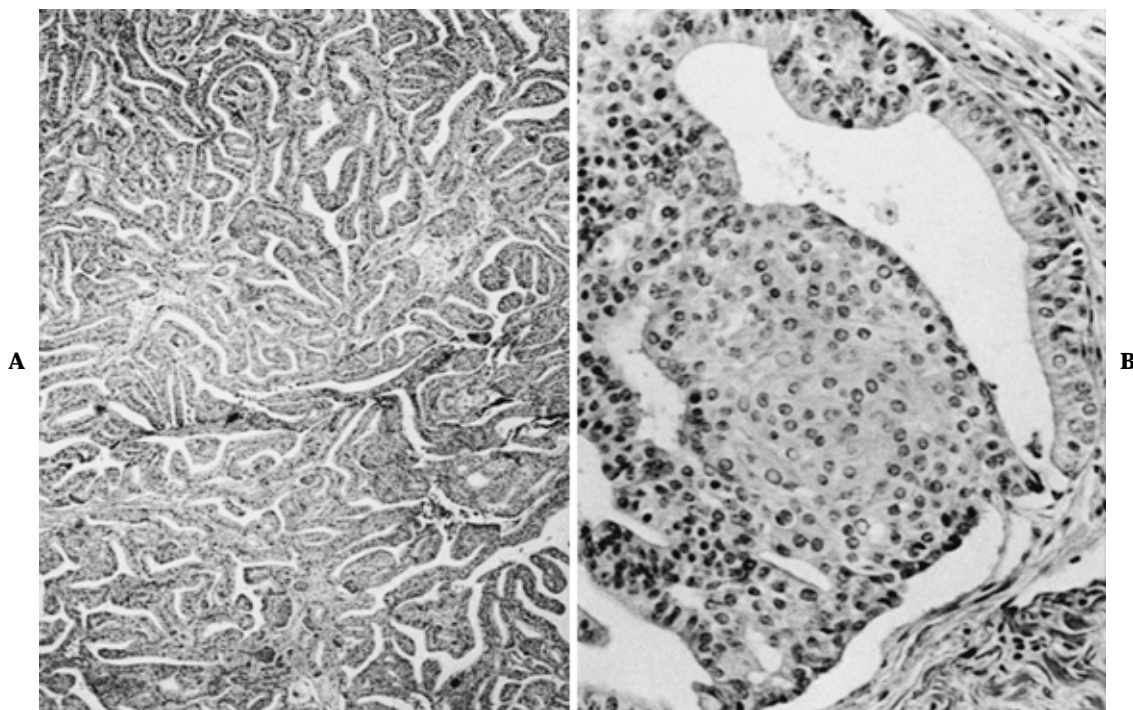


Figure 3. Microscopic findings. Complex tubular-shaped glands were lined by pseudostratified, non-ciliated columnar epithelia which had clear eosinophilic cytoplasm but little hyperchromasia or pleomorphism in the nuclei. (A: × 40 H&E) A morule composed of the cells with abundant cytoplasm was seen. (B: × 400 H&E)

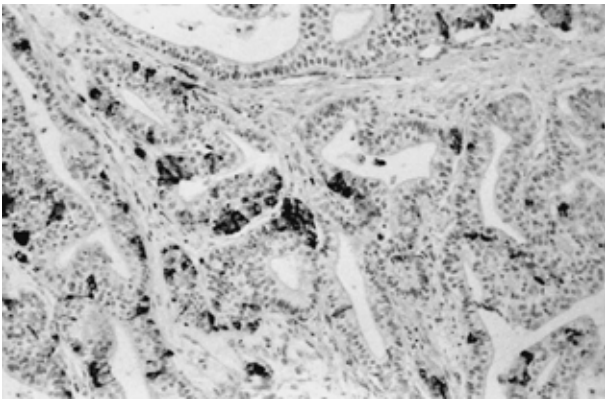


Figure 4. Immunohistochemical analysis of synaptophysin. Positive immunostaining with synaptophysin was seen predominantly in morules.

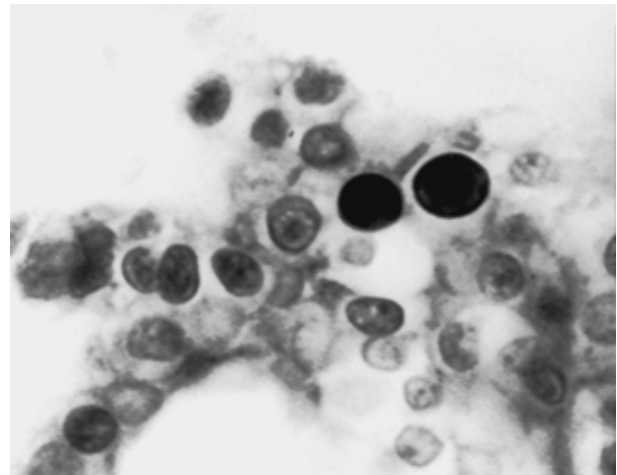


Figure 6. Immunohistochemical analysis of β -catenin. Accumulation of β -catenin in the nuclei of tumor cells is observed.

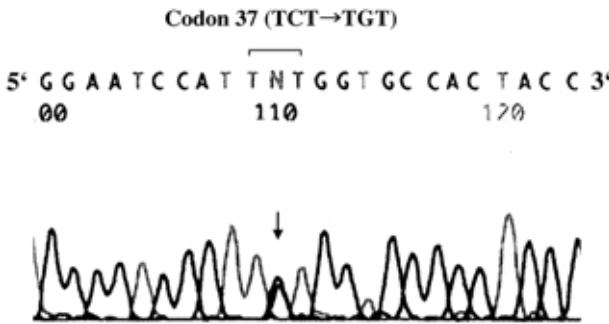


Figure 5. Sequence analysis of the β -catenin gene. A TCT (Ser) to TGT (Cys) transversion at codon 37 was identified.

法で解析した。 $p53$ 遺伝子および $KRAS$ 遺伝子には変異は認められなかったが、 β カテニン遺伝子エクソン 3 のコドン 37 に TCT (セリン) から TGT (システイン) へのミスセンス変異がみられた (Figure 5)。そこで腫瘍細胞を β カテニン抗体 (C19220, Transduction Laboratories) にて免疫染色したところ β カテニンの核への集積が 10% 以上の腫瘍細胞に認められ、遺伝子変異により β カテニンが活性化されていることが示唆された (Figure 6)。

考 察

肺芽腫は極めて稀な悪性腫瘍で 1952 年に Barnard により胎児肺に類似した上皮および間葉系悪性細胞を有する腫瘍として embryoma of lung の名のもとにはじめて報告された²。1961 年には Spencer が 4 例を報告し、nephroblastoma に類似点が多いことより mesodermal blastema から発生すると推測し pulmonary blastoma (PB) と命名した³。1988 年には、Manivel らが小児の胸

膜および肺より発生する多くは悪性の上皮成分を全く欠くため成人に発生するものとは区別し pleuropulmonary blastoma と呼ぶことを提唱した⁴。さらに悪性の上皮成分のみから成る腫瘍も存在することがわかり、それらは pulmonary blastoma with argyrophil cells and lacking sarcomatous features⁵、pulmonary endodermal tumor resembling fetal lung⁵、pulmonary adenocarcinoma of fetal type⁶、well differentiated fetal adenocarcinoma⁷、well differentiated adenocarcinoma simulating fetal lung tubules in pseudoglandular stage⁸ などと報告され、現在では PB は狭義には悪性の上皮と間葉成分の両方を持つ biphasic type のものとされている。1999 年の WHO 分類は、blastoma (悪性の両成分を持つもの)、pleuropulmonary blastoma (悪性の上皮成分を持たないもの)、well differentiated fetal adenocarcinoma (悪性の上皮成分のみを持つもの) と分類している⁹。

W DFA は非常に稀であるためその遺伝子変異解析の検討を加えた報告は少ない。1996 年に Bodner らが、9 例の blastoma と 12 例の W DFA の $p53$ 遺伝子を SSCP 法と免疫組織化学染色で検討し前者に 5 例 (42%) の変異および過剰発現が検出されたのに対し、後者では 1 例も検出されず両者の臨床病理学的相違が $p53$ 遺伝子変異にも反映されていると報告した¹⁰。1997 年には Holst らが 5 例の carcinosarcoma、9 例の spindle cell carcinoma、7 例の blastoma、3 例の W DFA を同様な手法で、さらに $KRAS$ 遺伝子の解析を加えた検討をし、blastoma では 7 例中 1 例に $p53$ 遺伝子変異、4 例に $p53$ 蛋白の過剰発現を、W DFA では 3 例中 1 例に $p53$ 蛋白の過剰発現をわずかに一部に認めたのみであり、 $KRAS$ 遺伝子変異は

両者ともに検出されなかったと報告した。¹¹ 今回の我々の症例もこうした報告と同様に *KRAS* 遺伝子, *p53* 遺伝子に変異は検出されず, WDFa の特徴を示すものと考えられた。

β カテニン は Wnt シグナル系に関与し, 大腸癌, 子宮癌などでその活性型の変異が報告されてきた。最近の研究では hepatoblastoma, nephroblastoma (Wilms' tumor), medulloblastoma において β カテニン 遺伝子の変異が相次いで報告され^{12,13} こうした blastoma と呼称される腫瘍において β カテニン 遺伝子の関与が示唆されている。これらの腫瘍を同一カテゴリーとして扱ってよいかは議論の余地があるが現在までに肺の blastoma における β カテニン 遺伝子の変異の報告はなく, blastoma の垂型とされている WDFa に β カテニン 遺伝子の変異が存在したことは今後の研究に有益な示唆を与える可能性があると考えられた。

謝辞: 稿を終えるにあたり, 病理組織学的考察にご協力頂いた, 筑波大学基礎医学系病理学, 野口雅之先生に深謝いたします。

REFERENCES

1. Sekido Y, Sato Y, Usami N, et al. Establishment of a large cell lung cancer cell line (Y-ML-1B) producing granulocyte colony-stimulating factor. *Cancer Genet Cytogenet.* 2002; 137:33-42.
2. Barnard WG. Embryoma of lung. *Thorax.* 1952;7:299-301.
3. Spencer H. Pulmonary blastomas. *J Pathol Bacteriol.* 1961;82:161-165.
4. Manivel JC, Priest JR, Watterson J, et al. Pleuropulmonary blastoma. The so-called pulmonary blastoma of childhood. *Cancer.* 1988;62:1516-1526.
5. Kradin RL, Young RH, Dickersin GR, et al. Pulmonary blastoma with argyrophil cells and lacking sarcomatous features (pulmonary endodermal tumor resembling fetal lung). *Am J Surg Pathol.* 1982;6:165-172.
6. Müller-Hermelink NK, Kaiserling K. Pulmonary adenocarcinoma of fetal type: alternating differentiation argues in favour of a common endodermal stem cell. *Pathol Anat.* 1986;409:195-210.
7. Koss MN, Hochholzer L, O'Leary T. Pulmonary Blastomas. *Cancer.* 1991;67:2368-2381.
8. Kodama T, Shimosato Y, Watanabe S, et al. Six cases of well-differentiated adenocarcinoma simulating fetal lung tubules in pseudoglandular stage. Comparison with pulmonary blastoma. *Am J Surg Pathol.* 1984;8:735-744.
9. Travis WD, Colby TV, Corrin B, et al. *Histological Typing of Lung and Pleural Tumours. World Health Organization International Histological Classification of Tumours.* 3rd ed. Berlin: Springer; 1999.
10. Bodner SM, Koss MN. Mutations in the p53 gene in pulmonary blastomas: immunohistochemical and molecular studies. *Hum Pathol.* 1996;27:1117-1123.
11. Holst VA, Finkelstein S, Colby TV, et al. p53 and K-ras mutational genotyping in pulmonary carcinosarcoma, spindle cell carcinoma, and pulmonary blastoma: implications for histogenesis. *Am J Surg Pathol.* 1997;21:801-811.
12. Koch A, Denkhaus D, Albrecht S, et al. Childhood hepatoblastomas frequently carry a mutated degradation targeting box of beta-catenin gene. *Cancer Res.* 1999;59:269-273.
13. Koesters R, Ridder R, Kopp-Schneider A, et al. Mutational activation of the beta-catenin proto-oncogene is a common event in the development of Wilms' tumors. *Cancer Res.* 1999;59:3880-3882.