

肺癌の分子病理学

—発現解析による肺癌の分子腫瘍分類—

谷田部恭¹

要旨 — **目的**. 腫瘍の発現プロファイルの比較に基づいた階層的クラスタリングは, 全遺伝子の発現パターンを比較した分子生物学的分類ととらえることも可能である. そこで, 肺癌における発現プロファイルをもとに, 肺癌の分子生物学的分類について考察した. **研究計画 (方法)**. これまでに発表された肺癌における階層的クラスタリングを比較検討した. **結果**. 肺癌はまず2つのグループに大別化され, その後に4大組織型に基づいたクラスターに分かれる. そのクラスター間の関係から見ると, 小細胞肺癌と扁平上皮癌の違いは, 腺癌クラスターの違いよりはるかに小さいことがわかった. また, 発現分子の詳細な検討を行うと, この2つのグループは, その由来となる細胞型に大きく依存しているのではないかと考えられた. それは, 少なくとも2つのうちの1つのグループは, 末梢肺細胞から由来したと考えられる腺癌であったからである. そしてこの末梢肺細胞型腺癌には EGFR 遺伝子変異が特異的に観察され, 臨床病理学的にも女性・非喫煙者に多いことから, 特徴ある腫瘍グループであると推測された. **結論**. 肺癌の分子生物学的分類から, 細胞系の違いによる分子発がん機序の理解も重要ではないかと思われた. (肺癌. 2007;47:909-913)

索引用語 — 肺癌, 末梢細胞型腺癌, EGFR 遺伝子変異, 分子生物学的腫瘍分類

Molecular Pathology of the Lung Cancer

—Molecular Classification of Lung Cancer Based on Expression Profile—

Yasushi Yatabe¹

ABSTRACT — **Objective**. Unsupervised hierarchical clustering in expression profiling analyses allows molecular classification of tumors, based on the similarity of the genome-wide expression patterns. This new molecular-based classification shares the current pathological classification in part, though it also provides additional clues to identify cancers by their biological groups. Here, we introduce a novel means of molecular classification of lung cancer. **Study Design**. We examined the gene expression profiling analyses of lung cancers published so far. **Results**. The molecular classification can differ from the current classification schema, dividing lung cancers into 2 distinct branches. One of the branches includes adenocarcinoma alone, which is associated with a normal expression profile, while the group in the other branch is composed of all 4 histological subtypes. The former subset of adenocarcinomas is characterized by frequent development in females and non-smokers, expression of thyroid transcription factor-1 and surfactant proteins, and specific involvement of EGFR gene mutation, suggesting a distinct subset of lung adenocarcinoma. **Conclusion**. The molecular classification based on expression profile revealed biological significance of the cellular lineage of the lung cancer. (JLCC. 2007;47:909-913)

KEY WORDS — Lung cancer, Terminal respiratory unit type adenocarcinoma, EGFR gene mutation, Molecular clas-

¹愛知県がんセンター遺伝子病理診断部.

別刷請求先: 谷田部恭, 愛知県がんセンター遺伝子病理診断部,
〒464-8681 名古屋市千種区鹿子殿 1-1 (e-mail: yyatabe@aichi-cc.jp).

¹Department of Pathology and Molecular Diagnostics, Aichi

Cancer Center, Japan.

Reprints: Yasushi Yatabe, Department of Pathology and Molecular Diagnostics, Aichi Cancer Center, 1-1 Kanokoden, Chikusa-ku, Nagoya 464-8681, Japan (e-mail: yyatabe@aichi-cc.jp).

© 2007 The Japan Lung Cancer Society

sification of the cancer

はじめに

ヒューマンゲノムプロジェクトの完了に伴い、すべてのゲノムの発現を解析することが可能になった。発現解析はその例であり、その生物学的発現パターンを比較することによって腫瘍を分類することができる。その最も代表的な解析方法が、階層的クラスタリングであり、その組み分け（分類）結果はいわば腫瘍の分子生物学的分類に相当すると考えられる。

乳癌ではこのクラスタ法を応用し、分子生物学的分類について早い時期から検討が加えられている。¹ この分類によると乳癌は、正常乳腺類似型、乳管上皮型、基底細胞型、HER2 異常型の 4 亜型に分けることが可能である。¹⁴ この分類は、種々のコホートでも普遍的に分類されるとともに、BRCA1 遺伝子変異が基底細胞型に特異的に認められるなど、²⁵ 生物学的な意義を反映して分類されていることを示唆している。さらに、異なった方法である SNPs array を用いたゲノムワイドの LOH パターンにおいてもこの 4 亜型が抽出され、⁶ この分類の妥当性を裏付けている。近年ではさらにこれらの亜型が術前化学療法の反応性と相関することも示されている。⁷

肺癌については、これまでにいくつかの発現解析の結果が報告されている。これらの結果では、4 大組織型（腺癌、扁平上皮癌、小細胞癌、大細胞癌）は明瞭なクラスターとして認識される。しかしながら、現在の治療戦略において重要な区別である小細胞癌と非小細胞癌の隔たりよりも、腺癌の中での隔たりが大きいとの結果も示されている。本検討においては、この肺癌の多様性についての生物学的考察を行った。

腺癌の多様性

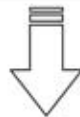
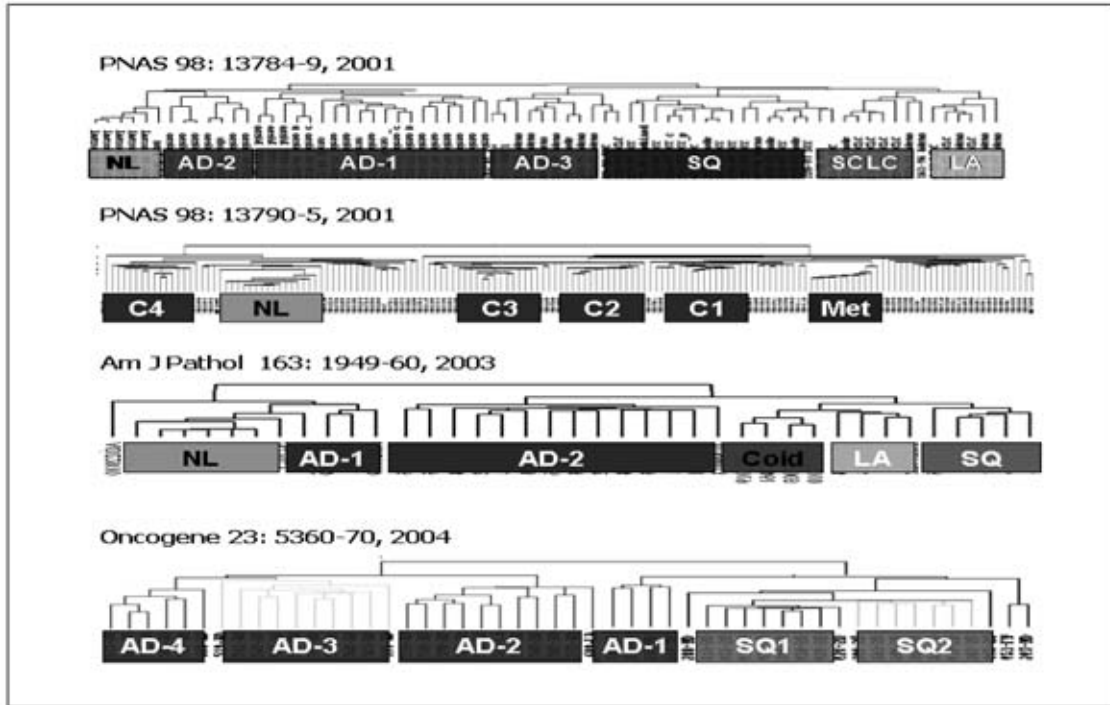
これまでに発表され、かつ利用可能であったデータを解析すると、どの肺癌の分子生物学的分類もほぼ同じパターンを (Figure 1) 示すことが判明した。⁸⁻¹² すなわち、各々の亜型群の頻度に差はあるものの、肺癌はまず大きく 2 群に分けられた後に、組織型に一致する亜型クラスターに分けられている。第 1 群に属するグループは腺癌のみからなり、正常組織と類似した発現パターンを示している。これに対して第 2 群に属するグループは 4 大組織型のすべてが含まれている。第 1 群は、Garber らの報告⁸ では “adeno-group 1” と “adeno-group 2” に相当し、Bhattacharjee らの報告⁹ では C3 and C4, Borczuk らの検討¹⁰ では group 2, われわれの検討¹¹ では AD-3

and AD-4 に対応する。これら第 1 群の腺癌は、末梢肺実質で発現している分子、thyroid transcription factor-1 (TTF-1) やサーファクタント蛋白の高い発現を示すという特徴を有している。正常肺組織と同じ群に分類されるのもそのためであろう。これに対して、第 2 群では扁平上皮癌や小細胞癌、腺癌からなっている。Bhattacharjee らの報告⁹ では大腸癌の転移性腫瘍についても検討しているが、それがどの腫瘍群のパターンに近いのかは興味深い。それらの腫瘍は大腸上皮を由来とした腺癌であるが、独立したクラスターを形成するものの、扁平上皮癌の隣に分類されたのである。このことは、同じ肺に生じた腺癌である第 1 群肺腺癌と第 2 群腺癌の違いが、大腸の腺癌と肺扁平上皮癌の違いよりも大きいことを示している。

発現解析をもとにその原発臓器の推定を試みた論文がいくつか知られているが、^{13,14} その際に肺癌に特徴として挙げられるのは、TTF-1, サーファクタント蛋白など末梢肺実質で発現している分子である。すなわち、これらの分子を高発現している肺腺癌は、種々の臓器から発生する腺癌とは際立った違いを示すということの意味している。このため、前述の結果のような、大腸の腺癌が肺扁平上皮癌の近い亜型として分類されたのではないかと考えられる。この違いは次のような関係にたどることができるのではないだろうか？ クジラヤイルカ（第 1 群の末梢細胞型腺癌）は、同じ水中にすむ生物であり（肺に発生する腫瘍）、マグロやイワシと肉眼的には類似した特徴（ひれ、流線型の体躯）を示す。しかしながら、生物学的にはクジラヤイルカは哺乳類であり、マグロやイワシは魚類に属する。

Terminal respiratory unit と末梢細胞型肺癌

肺は解剖学的に、空気を通じる気道系組織と酸素交換を行う末梢肺実質組織に大別される。気道系組織の上皮としては気管支被覆細胞、気管支腺細胞などが挙げられ、末梢実質組織としては肺胞上皮 (I 型, II 型) がある。後者の末梢気道上皮細胞は、酸素の交換という他の臓器では見られないきわめてユニークな機能を司る細胞である。また、発生学的にも肺は、気管系の発達とそれに引き続く肺実質の形成の 2 つの相に分けることができる。前述の末梢細胞型腺癌は、このユニークな末梢肺細胞が由来と考えられる腺癌である (Figure 2)。この腺癌を特徴付ける発現分子としては、サーファクタントプロテイン、TTF-1 などの発現が観察される。われわれは、これ



General schema of the molecular classification of lung cancers

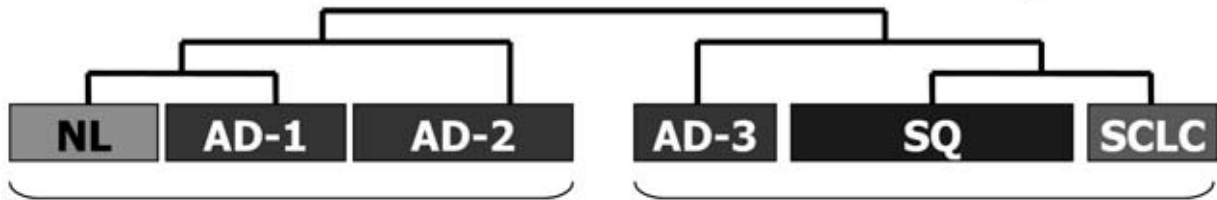


Figure 1. General schema of the molecular classification of lung cancers. Four representative unsupervised hierarchical clustering based on expression profiling analysis shared common pattern of clustering, although the proportion of each cluster varies among the reports (NL, normal lung; AD, adenocarcinoma; SQ, squamous cell carcinoma; SCLC, small cell lung cancer; LA, large cell carcinoma; Cold, carcinoid tumor; Met, metastatic cancer form the colon).

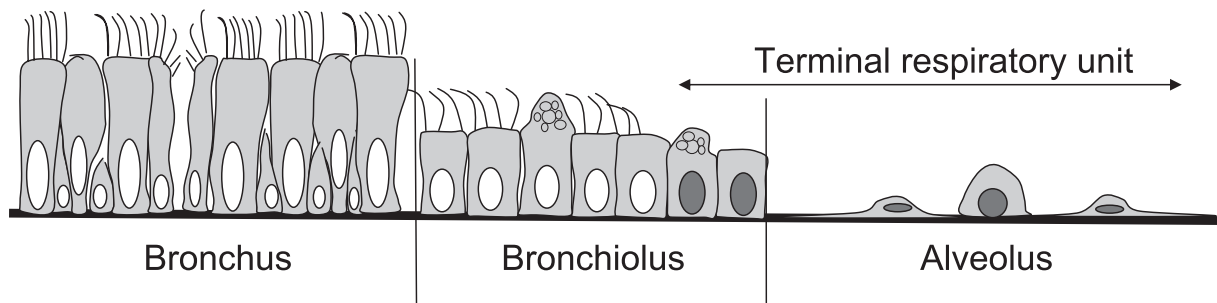


Figure 2. Schematic representation of respiratory tract epithelium. Epithelium of an alveolus and a part of a bronchiole constitutes terminal respiratory unit, the distinction of which is not identical to the histoanatomical definition. Darker nuclei indicate TTF-1 expression.

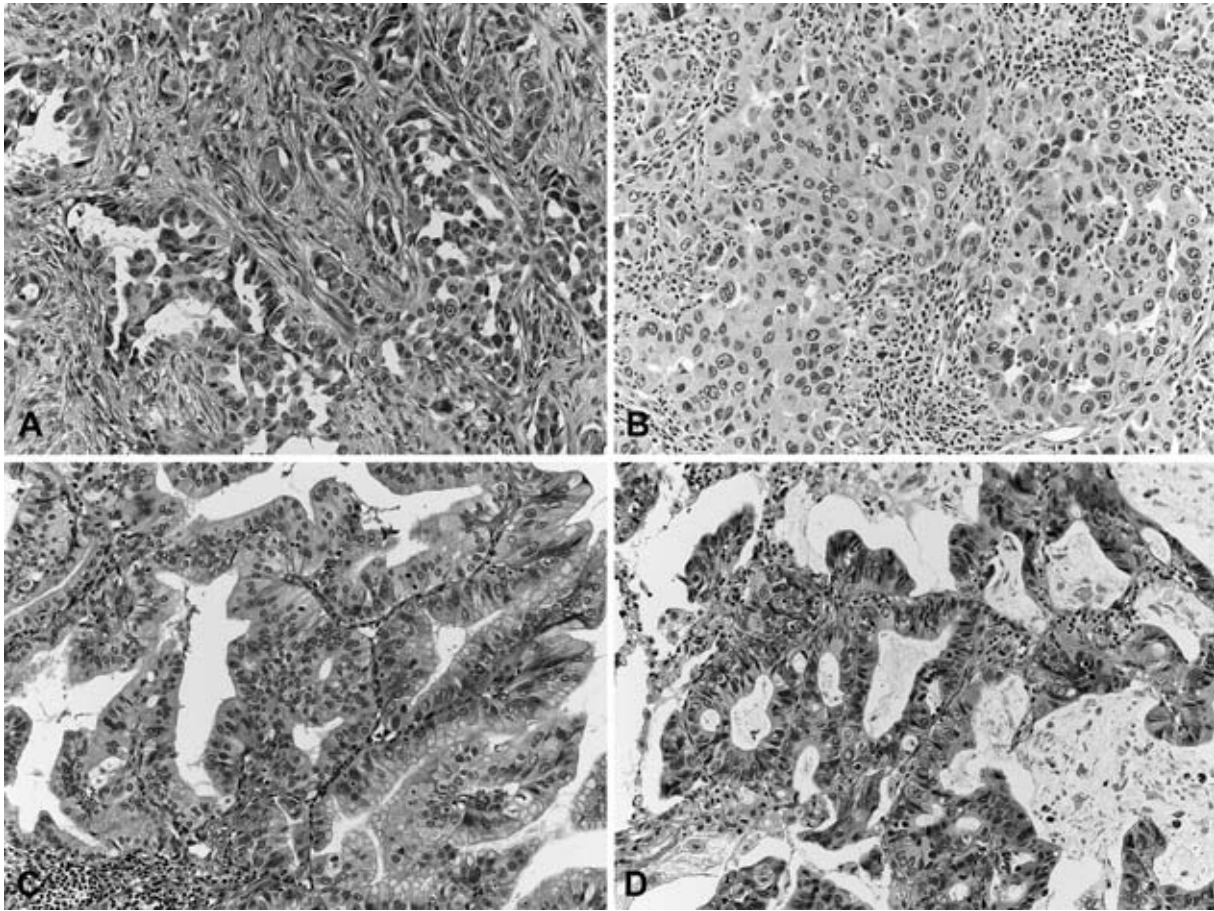


Figure 3. Representative pictures of terminal respiratory unit type adenocarcinoma (A and B) and the other type of adenocarcinoma (C and D). Although the former type was mistakenly interpreted as being equivalent to non-mucinous bronchioloalveolar carcinoma in some reports, this type includes poorly-differentiated invasive adenocarcinoma (B) when characteristics of the adenocarcinoma fulfill criteria of the lineage of terminal respiratory unit.

ら分子のうち TTF-1 に焦点を当て検討を行ってきた。^{15,16} その理由として、この分子が末梢肺細胞のマスター制御遺伝子であると考えられるからである。なぜならば、1) 肺の機能維持に欠かせない数々のサーファクタントの発現を司る転写制御因子でもあること、^{17,18} 2) TTF-1 ノックアウトマウスでは気道系は形成されるが末梢気道上皮の発達不全を示すこと、^{19,20} 3) TTF-1 の発現を検討すると、発生初期より成人までの末梢気道上皮に常に発現されるが、気管支上皮などの気道系上皮には発現は認められないこと、^{15,21-23} などだからである。成人の肺正常組織においては、微絨毛を持たない細気管支上皮細胞から肺胞細胞までの細胞に TTF-1 が均一に発現し、われわれは、この転写因子によって特徴付けられた解剖学的、生理学的な一つの単位として terminal respiratory unit を提唱した。^{15,23}

この末梢細胞型肺腺癌を TTF-1 を指標に、その特徴を調べてみると、女性、非喫煙者の頻度が非常に高く、形

態学的にも TTF-1 発現腺癌は末梢肺細胞に類似した形態を示した。これに対し、発現の認められない腺癌は気管支腺や気管支上皮由来の腺癌と推測された (Figure 3)。さらに、p53 遺伝子変異やその変異パターン、p27 発現、COX2 発現などの遺伝子異常の関与が、他の腺癌とは全く異なっていた。¹⁵ また、これらの特徴はゲフィチニブに反応性を示す肺腺癌の特徴によく一致していることから、EGFR 遺伝子変異との関連を調べてみた。その結果、この遺伝子変異は末梢細胞型肺腺癌に特異的に生じていた。¹⁶ これらのことから、末梢細胞型肺腺癌は、特異な発がん機序が関与することが示唆される。これまで、EGFR 遺伝子変異が肺腺癌に特異的に生じるという現象についての明確な推論はなされていなかったが、この末梢肺細胞が EGFR 遺伝子変異に対する感受性が高いとするとうまく説明できる。すなわち、末梢肺細胞は全臓器の中で他に類を見ない細胞であり、その細胞に EGFR 遺伝子変異が生じるためとするとつじつまが合う。²⁴

まとめ

腫瘍の分類の目的は、悪性度や腫瘍の特徴の推定、治療戦略の選択、腫瘍の発がん機序などの理解である。現在、肺癌において最も重要な分類は、小細胞癌と非小細胞癌の区別である。これは、臨床病理学的特徴、治療反応性、予後の違いが多くの検討で明瞭になったためである。発現解析による分子腫瘍分類においては、生物学的に末梢細胞型腺癌は他の腺癌に比してきわめて異なった特徴を有していることが示唆された。この違いはEGFR遺伝子変異や喫煙が発症に与える影響などによっても裏付けられている。²⁵ もちろんさらなる確認が必要ではあるが、この違いに基づいた治療戦略の確立や肺癌の発がん機序の検討も必要なのではないだろうか。

REFERENCES

- Perou CM, Sørli T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2000;406:747-752.
- Sørli T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron JS, Nobel A, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100:8418-8423.
- Sotiriou C, Neo SY, McShane LM, Korn EL, Long PM, Jazaeri A, et al. Breast cancer classification and prognosis based on gene expression profiles from a population-based study. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100:10393-10398.
- Sørli T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98:10869-10874.
- Foulkes WD, Stefansson IM, Chappuis PO, Bégin LR, Goffin JR, Wong N, et al. Germline BRCA1 mutations and a basal epithelial phenotype in breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2003;95:1482-1485.
- Wang ZC, Lin M, Wei LJ, Li C, Miron A, Lodeiro G, et al. Loss of heterozygosity and its correlation with expression profiles in subclasses of invasive breast cancers. *Cancer Res*. 2004;64:64-71.
- Rouzier R, Perou CM, Symmans WF, Ibrahim N, Cristofanilli M, Anderson K, et al. Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. *Clin Cancer Res*. 2005;11:5678-5685.
- Garber ME, Troyanskaya OG, Schluens K, Petersen S, Thaesler Z, Pacyna-Gengelbach M, et al. Diversity of gene expression in adenocarcinoma of the lung. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98:13784-13789.
- Bhattacharjee A, Richards WG, Staunton J, Li C, Monti S, Vasa P, et al. Classification of human lung carcinomas by mRNA expression profiling reveals distinct adenocarcinoma subclasses. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98:13790-13795.
- Borzuk AC, Gorenstein L, Walter KL, Assaad AA, Wang L, Powell CA. Non-small-cell lung cancer molecular signatures recapitulate lung developmental pathways. *Am J Pathol*. 2003;163:1949-1960.
- Tomida S, Koshikawa K, Yatabe Y, Harano T, Ogura N, Mitsudomi T, et al. Gene expression-based, individualized outcome prediction for surgically treated lung cancer patients. *Oncogene*. 2004;23:5360-5370.
- Kikuchi T, Daigo Y, Katagiri T, Tsunoda T, Okada K, Kakiuchi S, et al. Expression profiles of non-small cell lung cancers on cDNA microarrays: identification of genes for prediction of lymph-node metastasis and sensitivity to anti-cancer drugs. *Oncogene*. 2003;22:2192-2205.
- Giordano TJ, Shedden KA, Schwartz DR, Kuick R, Taylor JM, Lee N, et al. Organ-specific molecular classification of primary lung, colon, and ovarian adenocarcinomas using gene expression profiles. *Am J Pathol*. 2001;159:1231-1238.
- Shedden KA, Taylor JM, Giordano TJ, Kuick R, Misek DE, Rennert G, et al. Accurate molecular classification of human cancers based on gene expression using a simple classifier with a pathological tree-based framework. *Am J Pathol*. 2003;163:1985-1995.
- Yatabe Y, Mitsudomi T, Takahashi T. TTF-1 expression in pulmonary adenocarcinomas. *Am J Surg Pathol*. 2002;26:767-773.
- Yatabe Y, Kosaka T, Takahashi T, Mitsudomi T. EGFR mutation is specific for terminal respiratory unit type adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2005;29:633-639.
- Nord M, Cassel TN, Braun H, Suske G. Regulation of the Clara cell secretory protein/uteroglobin promoter in lung. *Ann NY Acad Sci*. 2000;923:154-165.
- Cassel TN, Suske G, Nord M. C/EBP alpha and TTF-1 synergistically transactivate the Clara cell secretory protein gene. *Ann NY Acad Sci*. 2000;923:300-302.
- Minoo P, Su G, Drum H, Bringas P, Kimura S. Defects in tracheoesophageal and lung morphogenesis in Nkx2.1 (-/-) mouse embryos. *Dev Biol*. 1999;209:60-71.
- Kimura S, Hara Y, Pineau T, Fernandez-Salguero P, Fox CH, Ward JM, et al. The T/ebp null mouse: thyroid-specific enhancer-binding protein is essential for the organogenesis of the thyroid, lung, ventral forebrain, and pituitary. *Genes Dev*. 1996;10:60-69.
- Stahlman MT, Gray ME, Whitsett JA. Expression of thyroid transcription factor-1 (TTF-1) in fetal and neonatal human lung. *J Histochem Cytochem*. 1996;44:673-678.
- Ordóñez NG. Thyroid transcription factor-1 is a marker of lung and thyroid carcinomas. *Adv Anat Pathol*. 2000;7:123-127.
- Yatabe Y. Role of expression of thyroid transcription factor-1 in pulmonary adenocarcinoma. In: Hayat MA, ed. *Immunohistochemistry and in situ hybridization of human carcinomas*. New York: Elsevier Science/Academic Press; 2004:169-179.
- Yatabe Y. Molecular classification of tumors with special reference to EGFR mutation in lung cancer. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2006;58 (Suppl 1):17-23.
- Yatabe Y, Mitsudomi T. Epidermal growth factor receptor mutations in lung cancers. *Pathol Int*. 2007;57:233-244.