

特発性肺線維症と発がん

工藤 翔二*

はじめに

特発性肺線維症は難治の疾患であり、診断時からの平均余命は約 5 年とされている。その死因として、想定される呼吸不全、心不全に続き肺がんが多い。合併自体の頻度も高く、通常の 7 倍から 14 倍、肺がん発生率が高いと報告されている¹⁾⁻⁴⁾。実際に、日本や英国における特発性間質性肺炎のフォローアップ研究では、4-15%の症例に肺がんの発生が認められている。また、肺がんとの関係が強い COPD における発生比率と比較した研究もなされており、COPD よりも高頻度に肺がんを合併すると報告されている⁵⁾⁶⁾。このような統計学的解析の結果から、この肺線維症と肺がんという二つの疾患には、特別な関係があると想定されており、ただ単に発生原因を共有しているだけなのか、それとも、肺線維症が発がん母地であるのか、という点が問題として浮かび上がってくる。一方、肺がん診断治療の見地からは、間質性肺炎、特に、特発性肺線維症が合併している事は、肺がん診療に大きな制約をもたらすことが知られている。すなわち、間質性肺疾患が先行した場合、肺腫瘍関連陰影を認識しにくいという診断上の問題点と、手術、放射線、化学療法などにより、間質性肺疾患、特に、特発性肺線維症の悪化がもたらされる場合があるため、通常のガイドラインに沿った治療が行えない場合が多いという治療上の問題点が指摘されている⁷⁾。したがって、この二つの疾患の合併は常に念頭において診療されるべきであるとともに、この肺線維症における発がんメカニズムを解明し、この肺線維症の存

在に制約を受けない新たな予防法や治療法を開発することがこの疾患の診療に大きな意義を持つと考えられている。

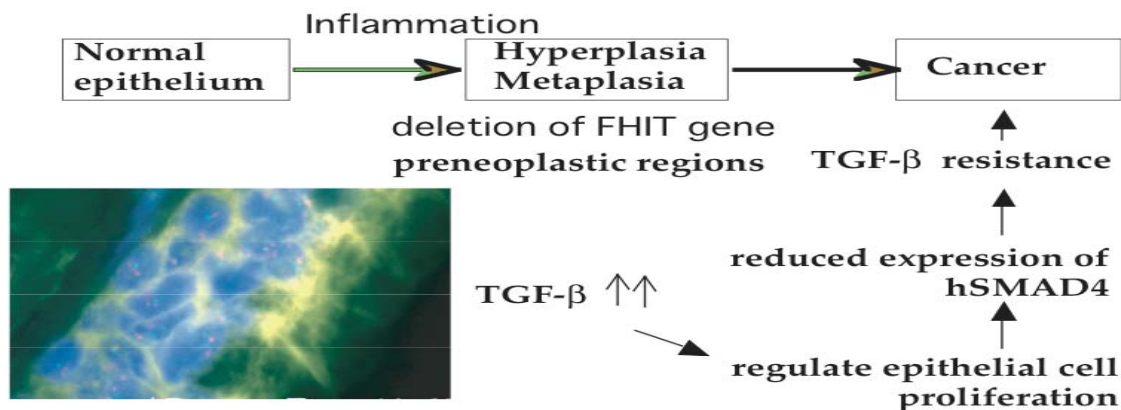
間質性肺疾患と肺がんの関係

この二つの病態の関係についての研究として、共通する原因に関する多くの報告がなされている。特に、特定の職業性因子や環境因子に曝露されることにより、間質性肺疾患、肺がん双方の発生頻度は高まることが知られている⁵⁾。例えば、現在、本邦において注目されているアスベストへの曝露による肺病変として、肺の線維化は代表的なものである。また、肺がんが高頻度に発生することも周知の事実である。喫煙も、また、この二つの疾病に共通した要因として知られている⁸⁾⁹⁾。この喫煙については、「間質性肺疾患に合併する肺がんの頻度を喫煙によってのみ説明しきれぬか」という見地での研究が為されており、間質性肺疾患の肺がん発生率は、喫煙状況により補正しても、通常より有意に高いという報告がなされている⁴⁾。このような二つの病態の高頻度の併存から、間質性肺疾患が肺がんの発生母地であるという仮説が注目され支持されている⁵⁾。

肺線維症における発がんメカニズムの分子生物学的検討

線維化、癒痕、慢性炎症と腫瘍との関係は古くから示唆されているが、そのメカニズムについては、未だ、今日的な研究課題である。その中で、肺線維症における発がんメカニズムについては、肺線維症における慢性上皮傷害により障害や修復を繰り返す間に、肺がんに関連した

*日本医科大学内科学(呼吸器感染腫瘍部門)



特発性肺線維症内の上皮細胞の *FHIT* 遺伝子の Fluorescent *in situ* hybridization (FISH) 解析。第3染色体セントロメアに比し、*FHIT* 遺伝子が欠失している細胞が認められる。

図-1 特発性肺線維症の発がんメカニズム

遺伝子変化が蓄積し、それががん化に関わっていると考えられている (図-1)。特に障害や修復の結果、間質性肺疾患内に生じる過形成や化生などの上皮病変と腫瘍との関係は、古くは、Meyer と Liebow の報告等にも記述されている¹⁰⁾ (図-2)。この上皮病変の中でも、蜂巢肺に多く認められる扁平上皮化生に特に注目した研究があり、肺がん合併例に、この頻度が高いと報告されている¹¹⁾。このような間質性肺疾患内の上皮病変における遺伝子解析は検討されつつあり、*P53*、*k-ras*、*FHIT* 遺伝子の異常やマイクロサテライト不安定性などの分子生物学的検討の報告がなされている (表-1)。

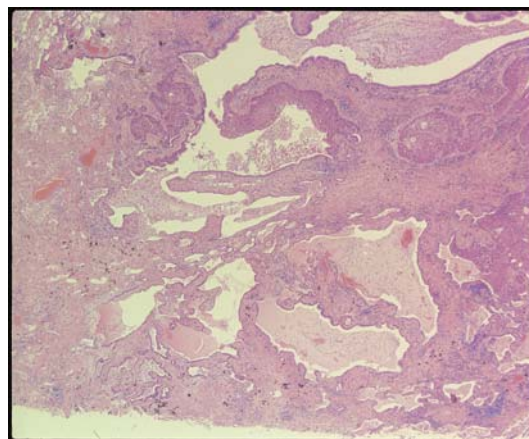


図-2 特発性肺線維症合併肺がんの組織像

表-1 肺線維症内の病変の遺伝子異常

Gene	Alterations	Fibrosis	Frequency/ No. of samples	Authors
<i>K-ras</i>	Mutation	Subpleural fibrotic lesions	15/156	Maeshima et al.
<i>K-ras</i>	Mutation	IPF	2/42	Takahashi et al.
<i>p53</i>	Mutation	Squamous metaplasia in IPF	7/30	Kawasaki et al.
Microsatellite marker	Microsatellite Instability LOH	IPF (sputum)	13/26	Vassilakis et al.
Microsatellite marker	LOH	IPF (sputum)	20/52	Demopoulos et al.

LOH: loss of heterozygosity

特発性肺線維症内上皮病変における FHIT 遺伝子アレルの欠失解析

第 3 染色体短腕の欠失は、肺がんで通常最も早期に高頻度に認められる異常として知られている。我々は、その部位に存在し高頻度に欠失している FHIT 遺伝子に注目し、loss of heterozygosity (LOH) 解析を行った。その結果、この遺伝子の欠失が特発性肺線維症内上皮病変に高頻度に認められる事を報告した (表-2)。肺がん合併例では、74 病変中 44 病変 (73%)、非合併例では、46 病変中 8 病変 (17%) に欠失を認めた¹²⁾。特発性肺線維症に肺がんが合併する場合、上皮病変が何らかの変異原に曝露し、がんを合併して行くことが示唆された。FHIT 遺伝子の欠失が喫煙と関係している事は、すでに報告されている¹³⁾。Fluorescent *in situ* hybridization (FISH) により化生細胞における欠失を併せ示した (図-1)¹²⁾。これらの間質性肺疾患内の上皮病変などの病変におけるがん関連遺伝子の変化の蓄積は、少なくとも、「肺線維症内の病変が遺伝子異常の蓄積により発生する肺がんの前がん病変であること」を示唆していると言える。

肺線維症と肺線維症合併肺がんの網羅的 遺伝子発現解析

しかし、上記のような研究による知見は未だ少数と言わざるを得ず、発がん機構の全体像は明らかとは言えない。現在、我々は、特発性肺線維症に存在する病変が腫瘍性性格を獲得する過程をより詳細に理解するために、それらの病変の遺伝子あるいはその発現の変化を総合的に把握することが必要であると考え、まず、病変

の網羅的発現解析を行っている。網羅的解析は、その全体像を把握するうえで重要と考えられ、いろいろな領域で行われているが、この領域では、肺線維症を合併した肺がん手術のリスクが高い事など、検体収集の困難さなどから報告はない。我々は、肺線維症部分と肺がん部分の遺伝子発現プロファイルを cDNA array を用いて検討した。cDNA array は、GeneNavigator cDNA array System -Cancer Selected- (TOYOB0 C0, Osaka, Japan) を用いて行った¹⁴⁾。その結果、幾つかの遺伝子異常が複数例で共通に認められたが、TGF- β 耐性関連因子の変化が最も高頻度に認められた。この結果は、real-time RT-PCR を用いたより多数例の解析でも確認された。以上より、発がん過程で TGF- β 耐性関連因子の変化が重要な役割を果たすことが示唆された。次に、最も高頻度に発現低下を認めた Smad4 について、遺伝子発現異常の機序解析を行った。8 例の IPF 合併肺がん症例の腫瘍の PCR SSCP 分析を Smad4 の exon 1 から 11 に対する 15 組の primer set および Smad4 の promoter 領域の primer set を用いて行ったが、いずれにおいても mutation は認められなかった。しかし MSP では 8 例中 2 例に Smad4 のメチル化したバンドが認められ、クローニング、シーケンシングにより Smad4 の高メチル化を確認した。このメチル化による機能を予測するため、高メチル化による不活化領域を含むものと含まないもののプロモーター活性を検討した。活性 (TK vector 比) は、含むものが 0.057 ± 0.034 に対し、含まないものは、 0.016 ± 0.005 と有意に低下していた ($p = 0.002$ by Mann-Whitney U test)。この発現低下機序は、予防法や治療法の開発には好都合と思われる。

表-2 肺線維症内上皮病変の FHIT 遺伝子のアレルの欠失

	上皮病変の FHIT 遺伝子のアレルの欠失頻度
肺がん合併特発性肺線維症	54 / 74 (73%)
肺がん非合併特発性肺線維症	8 / 46 (17%)
計	62 / 119 (52%)

TGF- β シグナル関連因子の変化を直接操作しようとした場合、肺線維症増悪の可能性が拭いきれない。がん特異的なメカニズムが介在しているならば、これは、肺線維症と肺線維症合併肺がんの相違する部分であり、発がん予防や治療に利用できる変化と期待される。

肺線維症合併肺がん細胞株の樹立と 治療予防モデルの作製

今後の治療予防モデル作製を目的とし、肺線維症合併肺がん細胞株の樹立を試みている。現在、1株(NMS-LK/IP-2)の樹立に成功した。この細胞株は、TGF- β 曝露による細胞数で感受性を解析したところ、TGF- β 耐性を有する事が示された。耐性の機序については現在までに明らかになっていない。今後、この解析を進める予定である。

むすび

肺線維症における発がんのメカニズムの研究は、種々の遺伝子解析が行われたが、最近の方法論の進歩を用い、その結果を再評価して、より正確な知見を積み重ねる必要がある様に思われる。また、全体像を捉えるという意味で、ポストヒトゲノム時代の網羅的解析は大いに活用する必要があると感じられる。この面での技術的進歩は顕著であり、検体を得にくいこのような領域の研究も可能な状況になりつつあると考えている。

文 献

- 1) Spain DM. The association of terminal bronchiolar carcinoma with chronic interstitial inflammation and fibrosis of the lungs. *Am Rev Tuberc* 1957; 76: 559-66.
- 2) Turner-Warwick M, Lebowitz M, Burrows B et al. Cryptogenic fibrosing alveolitis and lung cancer. *Thorax* 1980; 35: 496-9.
- 3) Matsushita H, Tanaka S, Saiki Y et al. Lung cancer associated with usual interstitial pneumonia. *Pathol Int* 1995; 45: 925-32.
- 4) Hubbard R, Venn A, Lewis S et al. Lung cancer and cryptogenic fibrosing alveolitis. A population-based cohort study. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 5-8.

- 5) Samet JM. Does idiopathic pulmonary fibrosis increase lung cancer risk? *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 1-2.
- 6) 大塚義紀, 浮田英明, 正木芳孝 他. 特発性間質性肺炎 (IIP) からの肺がん発症-prospective study-. *日胸疾会誌* 1991; 29: 560-5.
- 7) Kawasaki H, Nagai K, Yoshida J et al. Postoperative morbidity, mortality, and survival in lung cancer associated with idiopathic pulmonary fibrosis. *J Surg Oncol* 2002; 81: 33-7.
- 8) Aubry MC, Myers JL, Douglas WW et al. Primary pulmonary carcinoma in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Mayo Clin Proc* 2002; 77: 763-70.
- 9) Mizushima Y, Kobayashi M. Clinical characteristics of synchronous multiple lung cancer associated with idiopathic pulmonary fibrosis. A review of Japanese cases. *Chest* 1995; 108: 1272-7.
- 10) Meyer EC, Liebow AA. Relationship of interstitial pneumonia honeycombing and atypical epithelial proliferation to cancer of the lung. *Cancer* 1965; 18: 322-51.
- 11) Hironaka M, Fukayama M. Pulmonary fibrosis and lung carcinoma: a comparative study of metaplastic epithelia in honeycombed areas of usual interstitial pneumonia with or without lung carcinoma. *Pathol Int* 1999; 49: 1060-6.
- 12) Uematsu K, Yoshimura A, Gemma A et al. Aberrations in the fragile histidine triad (FHIT) gene in idiopathic pulmonary fibrosis. *Cancer Res* 2001; 61: 8527-33.
- 13) Sozzi G, Sard L, De Gregorio L et al. Association between cigarette smoking and FHIT gene alterations in lung cancer. *Cancer Res* 1997; 57: 2121-3.
- 14) Gemma A, Takenaka K, Hosoya Y et al. Altered expression of several genes in highly metastatic subpopulations of a human pulmonary adenocarcinoma cell line. *Eur J Cancer* 2001; 37: 1554-61.