

氏名	あべ そうせい 阿部 創世		
学位の種類	博士（医学）		
報告番号	乙第 1691 号		
学位授与の日付	平成 29 年 10 月 5 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当（論文博士）		
学位論文題目	Prognostic Significance of BMI-1 But Not MEL-18 Expression in Pulmonary Squamous Cell Carcinoma （肺扁平上皮癌における BMI-1, MEL-18 の発現と臨床病理学的 特徴および予後予測因子の検討）		
論文審査委員	（主査） 福岡大学	教授	藤田 昌樹
	（副査） 福岡大学	教授	田村 和夫
	福岡大学	講師	濱崎 慎

内容の要旨

【目的】

肺癌は世界的に予後不良な悪性腫瘍の一つである。

肺癌の約 85%は非小細胞肺癌であり、腺癌と扁平上皮癌が大多数を占める。

肺腺癌は、EGFR 遺伝子変異・EML4-ALK 遺伝子転座等のドライバー遺伝子の発見と分子標的薬による治療を中心に目覚ましい発展を遂げているが、肺扁平上皮癌においては、発がん機構に解明されていない部分が多く、治療や予後の予測に有用なバイオマーカーが確立されていないのが現状である。

Polycomb Group (PcG) タンパク質は、細胞分裂を通してホメオティック遺伝子を制御するクロマチン修飾タンパク質であり、多くの癌との関与が報告されている。

PcG タンパク質は、2つの多量体タンパク質複合体であるポリコム抑制複合体 1 (PRC1) およびポリコム抑制複合体 2 (PRC2) に大別され、BMI-1 および MEL-18 は共に PRC1 の構成要素である。

BMI-1 は、INK4A によってコードされる p16Ink4a および p19Arf を抑制し、細胞周期の停止、老化、アポトーシスを誘導する重要な分子として知られており、MEL-18 は、C-MYC の発現を制御することで BMI-1 の発現を調節する。

BMI-1 および MEL-18 の脱制御は癌の発生において重要な役割を果たすと考えられている。我々は肺扁平上皮癌における BMI-1 および MEL-18 の発現が予後因子となり得る可能性について検討を行った。

【対象と方法】

当院における 1995 年から 2005 年の肺扁平上皮癌切除症例 199 例を対象とし、BMI-1 および MEL-18 の発現を免疫組織化学的 (IHC) に解析し、臨床病理学的因子との関連を検討した。Kaplan-Meier 法で生存曲線を算出し log-rank 検定を行った。予後因子として検討は Cox 回帰分析を用いて検討した。P 値 < 0.05 を有意差有り と判定した。

【結果】

199 例のうち 41 例 (21%) が BMI-1 陽性、47 例 (23.6%) が MEL-18 陽性であった。IHC による BMI-1 の発現と臨床病理学的因子との間に相関は見られなかった。MEL-18 はいかなる因子とも関連していなかった。

無病生存率、疾患特異的生存率、全生存率について検討したところ、BMI-1 陽性群において、5 年無病生存率 (陽性 78.4%、陰性 63.8%、 $p = 0.045$)、5 年全生存率 (陽性 66.8%、陰性 45.5%、 $p = 0.04$) は陰性群より有意に良好であった。5 年間疾患特異的生存率は、BMI-1 陽性群で良好な生存率の傾向を示した (陽性 71.2%、陰性 57.4%、 $p = 0.08$)。MEL-18 は全生存率および疾患特異的生存率と関連していなかった。

多変量 Cox 回帰分析では、全生存率において、喫煙指数 > 400、T 因子 (T2-4)、リンパ節転移陽性が有意な予後不良因子であったが、BMI-1 陽性は予後良好の傾向を示した (喫煙指数: HR = 5.49, 95%CI = [1.33-22.7], $p = 0.02$ 、T 因子: HR = 1.84, 95%CI = [1.03-3.3], $p = 0.039$ 、リンパ節転移: HR = 1.8, 95%CI = [1.01-3.19], $p = 0.045$ 、BMI-1: HR = 0.561, 95%CI = [0.271-1.16], $p = 0.12$)。

無病生存率においては、T 因子およびリンパ節転移が有意な予後因子であることが示された (T 因子: HR = 0.48, 95%CI = [0.27-0.87], $p = 0.015$ 、リンパ節転移: HR = 2.11, 95%CI = [1.16-3.84], $p = 0.014$)。BMI-1 と MEL-18 は関連性を示さなかった。

【結論】

多くの悪性腫瘍において BMI-1 の過剰発現は予後不良因子として関連すると報告されている。

本研究では、肺扁平上皮癌における BMI-1 発現は予後良好因子となる傾向を示した。

過去の報告で、*in vitro* でのヒト肺癌細胞株で BMI-1 サイレンシングが浸潤および転移を誘導することが報告されており、BMI-1 は早期に強く発現し進行期では低下することが示されリンパ節転移において負の相関があることが報告されている。また、*in vitro* において、BMI-1 抑制が上皮間葉系移行 (EMT) を誘導し肺癌の進行を導くとの報告もある。

他の報告では、肺癌転移リンパ節サンプルと比較して原発性 NSCLC 組織サンプルで BMI-1 が高発現しており、BMI-1 の過剰発現は侵襲性を低下させ NSCLC の浸潤および転移を抑制すると考えられている。

BMI-1は腫瘍増殖の過程で、一旦 upregulate されるが、その後、浸潤および転移に関連する遺伝子発現を誘導するため downregulate される。

BMI-1のステータスはNSCLCの進行過程で変化し、浸潤および転移において重要な指標となり得る。

乳癌においては、腋窩リンパ節転移と負の相関が示されており、BMI-1陽性症例の予後は陰性症例よりも有意に良好であるとの報告がある。BMI-1 mRNAは進行期と比較して早期に高発現しており、肺癌と同様にリンパ節転移において負の相関があることが報告されている。

以上の報告は、本研究を支持するものである。

なお、本研究において MEL-18 は、臨床病理学的因子および予後因子と関連性を示さなかった。また、BMI-1 と相関しなかった。

MEL-18 と BMI-1 は構造的に非常に類似しているが、多くの研究で癌細胞増殖や細胞生存におけるそれらの役割の相違性が報告されている。発がん機構に応じて腫瘍発生と抑制のいずれにも働く可能性があるとされているが、乳癌においては MEL-18 と BMI-1 は逆相関するとの報告がある。

MEL-18は転写的にC-MYCを抑制することで、C-MYCの標的であるBMI-1発現を抑制することから、肺癌においても逆相関する可能性が考えられたが、本研究では関連性を示さなかった。

研究の制限としては、後ろ向き研究であること、単一施設での研究であること、2群間の観察における症例数が比較的少数であることが挙げられる。

今後はより長期で追跡調査を行い症例数を増やすことが、結果のさらなる確証に繋がると考える。

BMI-1, MEL-18ともに controversial であり、他のタンパク等との兼ね合いで調節因子としての機能を決定している可能性がある。今後の研究で解明され有用なバイオマーカーとなることを期待したい。

肺扁平上皮癌において、BMI-1の発現が予後予測因子として有用である可能性が示唆された。

審査の結果の要旨

本論文は、肺扁平上皮癌における BMI-1、MEL-18 の発現と臨床病理学的特徴および予後予測因子を検討した研究の報告である。本研究は症例数の多さ、また、今まで他臓器癌で報告されていた結果と異なり、BMI-1 高発現は予後良好因子となる新規性を持つエビデンスを提示し得た。本論文の斬新さ、重要性、研究方法の正確性、表現の明確さ、審査委員

との質疑応答は以下の通りである。

1. 斬新さ

幹細胞の自己複製において key regulator として作用する Polycomb Group (PcG) タンパク質 BMI-1 が小細胞肺癌で発現するという過去の報告を契機として、肺扁平上皮癌においても重要な役割を果たしている可能性を考え、BMI-1 の発現を免疫組織化学的に解析し、臨床病理学的因子との関連を検討している。また、BMI-1 と共に Polycomb repressive complex 1 (PRC1) を形成する MEL-18 の発現についても検討し解析を行っている。これらのテーマは増加の一途を示す肺癌、特に治療に難渋している肺扁平上皮癌に対する治療方針に影響を及ぼしうるが、今まで検討されておらず、新規性を認める。

2. 重要性

肺扁平上皮癌においては、発がん機構に未解明な部分が多く、治療効果や予後予測に有用なバイオマーカーが確立されていないのが現状である。本研究の結果から、BMI-1 高発現は予後良好因子となる傾向を示したため、今後有用なバイオマーカーとなる可能性が示唆される。治療に難渋する肺扁平上皮癌に対する治療方針に影響を及ぼす重要な論文と考えられる。

3. 研究方法の正確性

解析は福岡大学病院における 1995 年 1 月から 2005 年 12 月までの原発性肺扁平上皮癌切除症例のうち stage I から III の 199 症例を対象とし、手術資料、病理組織資料、カルテ情報をもとに行われている。

免疫染色においては、BMI-1: 抗 BMI-1 抗体 (F6)、MEL-18: 抗 MEL-18 抗体 (H115) を使用し、染色の評価は 2 人の独立した観察者によって評価されている。類似論文と比較して、症例数も多く、研究方法は妥当で正確性が担保されている。

4. 表現の明確さ

BMI-1 および MEL-18 が p16 遺伝子および p14 遺伝子に作用することによって、細胞周期 (G1/S 期) およびアポトーシスを制御していることを示し、本研究で注目した理由を説明した。

先行論文について紹介し、種々の癌において BMI-1 および MEL-18 の発現性が予後と関連する報告があることを説明した。

BMI-1 および MEL-18 の発現を免疫組織化学的に解析し、臨床病理学的因子との関連を検

討し、統計学的解析を行なっている。

統計学的解析については、Kaplan-Meier 法で生存曲線を算出し log-rank 検定を行い、予後因子として検討は Cox 回帰分析を用いて検討しており、P 値<0.05 を有意差有り と判定している。

目的、方法について明確かつ詳細に表現されている。結論も結果から直接的に導き出され、また結果に基づいた考察についても表現は明確である。

5. 主な質疑応答

Q: 肺扁平上皮癌で有効な治療薬が出ていない理由について。

A: 肺扁平上皮癌には、喫煙等による細胞障害の影響で、多彩な遺伝子変化が内在すると考えられる。肺腺癌のように相互排他的な単一の遺伝子変化に対する分子標的薬治療は、肺扁平上皮癌においては抜け道が多く奏功しにくいものと考えられる。

Q: 本研究において BMI-1 高発現が予後良好となった機序について。

A: まず、BMI-1 高発現が予後不良因子となる報告においては、BMI-1 が p16 遺伝子および p14 遺伝子に抑制的に作用し細胞増殖を促すことが主な発がん機序として説明されていることを示した。

本研究の結果については、乳癌および非小細胞肺癌と BMI-1 との関連性について検討された先行論文を裏付けとして提示した。乳癌においては臨床的に BMI-1 高発現が予後良好因子として報告されている論文であり、非小細胞肺癌においては *in vitro* での BMI-1 高発現は発がんに寄与するものの浸潤や転移には抑制的に働いている可能性が示唆されている論文であった。

Q: MEL-18 発現量が予後と関連しなかった理由について。

A: MEL-18 は BMI-1 と共に PRC1 を構成するタンパク質であり、BMI-1 の機能調節に MEL-18 も関連している事が過去の報告で示されているが、本研究の結果から肺扁平上皮癌においては、BMI-1 は MEL-18 と関連せず、別の調節因子からの影響を受けている可能性が考えられる。

Q: 他論文と比較可能であるか。

A: 免疫組織染色による評価方法は論文において幾分異なるが、本研究では多くの論文で採用されている方法を用いて評価した。使用した抗体（マウスモノクローナル抗 BMI-1 抗体 (clone F6) を使用) は広く使用されているものであり、他研究と比較できるものと考えられる。

Q: 今後の臨床応用について。

A: 今回の研究で BMI-1 高発現は予後良好である傾向を示したが、臨床病理学的因子においては有意な相関が得られなかったため、現時点での臨床応用は困難と考えられる。BMI-1 の機能調節には MEL-18 を含めて種々の蛋白が複合的に関連している事が示されており、今後の研究で組織型ごとの BMI-1 細胞内経路が解明され有用なバイオマーカーとなることを期待したい。

以上の質疑を中心に活発な討議が行われ、申請者は適切に回答した。

以上の審査の結果、本論文は、今後の肺扁平上皮癌の治療方針に影響を及ぼす研究であり、内容の斬新さ、重要性、研究方法の正確性、表現の明確さ、および質疑応答の結果を踏まえ、審査員で討議の結果、学位論文に値すると評価された。