

ど臨床応用への取り組みが進められているが、実際の肺腺癌臨床例においてこれらの遺伝子の発現状況や、どの程度抗癌剤感受性に影響を与えているか、すなわちグルタチオン合成経路の抑制により恩恵を受ける可能性のある症例がいるのかどうかについては明らかにされていない。

我々は肺腺癌における CSC マーカー (CD133、ALDH1A1、CD44) とこれらのグルタチオン合成経路に関わる遺伝子 (CD44v8-10、xCT、GCLC : GCL catalytic subunit) が肺腺癌の予後とシスプラチン耐性に与える影響を調べた。

【方法】

2007年4月から2013年8月の間に当院で行われた肺腺癌根治的切除症例のうち、十分な組織検体量が採取できたIB期以上の92例を対象とし、腫瘍部分から組織片を採取した。組織片から抽出したRNAからcDNAを合成し、定量的PCR (real time PCR) によりCD133、ALDH1A1、CD44 (全てのアイソフォームを含む)、CD44v8-10、xCT、GCLCのmRNA発現量を調べた。また、各患者の診療記録から手術日、再発確認日、死亡日または最終受診日と肺癌に対する手術以外の治療内容に関しても情報を抽出し、無再発生存期間 (手術日から初回再発確認日または最終確認日)、全生存期間 (手術日から肺癌による死亡日または最終確認日) を算出した。また、術後経過観察中に肺癌の再発を認め積極的な治療を行った22例に関して、再発後生存期間 (初回再発確認日から肺癌による死亡日または最終確認日) を算出した。肺癌以外の原因による死亡は打ち切りとした。

グルタチオン合成に関わる遺伝子群 (CD44v8-10、xCT、GCLC) とCD44のstandard isoform (CD44s) に関しては、全タンパクコード領域をクローニングし、細胞株でレンチウイルスベクターを用いて強制発現系を作成した。肺腺癌細胞株H358にコントロール用の緑色蛍光タンパク (GFP) とGCLC、xCT、CD44s (標準型)、CD44v8-10をそれぞれ強制発現させた細胞株を樹立し、さまざまな濃度のシスプラチンに48時間曝露した後の生存率を計測して感受性を比較した。

【結果】

肺腺癌手術症例について各遺伝子の腫瘍での発現量は、正常肺 (良性結節性病変3症例の背景肺の平均値) と比較して低い症例も多かった。92例中正常肺より高い発現量を示したのはCD133が61例、ALDH1A1は5例、all CD44は8例、CD44v8-10は28例、xCTが47例、GCLCは30例であった。全ての遺伝子で同数での解析を行うため、各遺伝子の発現量上位25% (23例) を高発現群、残り75% (69例) を低発現群と分類した。無再発生存率と全生存率についてどの遺伝子も高発現群と低発現群の予後に統計学的な有意差を認

めなかったが、再発後生存率においては CD133 高発現（ハザード比 3.48、95%信頼区間 0.93–13.1、 $P=0.047$ ）と GCLC 高発現（ハザード比 6.26、95%信頼区間 1.37–28.7、 $P=0.018$ ）が予後不良であった。

一方、GCLC、xCT、CD44s、CD44v8-10 を強制発現した H358 細胞株をシスプラチンに曝露した際の 50%阻害濃度は、いずれもコントロールの GFP 発現株の 6.9 μM と比較して有意な上昇を認め（GCLC : 12.9 μM ; $P=0.026$ 、xCT : 13.9 μM ; $P=0.025$ 、CD44s : 26.7 μM ; $P<0.001$ 、CD44v8-10 : 17.7 μM ; $P=0.001$ ）、シスプラチンに対する感受性が低下していた。

【考察】

今回解析した CSC マーカーとグルタチオン合成に関わる遺伝子群の腫瘍内での mRNA 発現量は、肺腺癌の予後に統計学的に有意な影響を与えていなかった。症例数が限られていることや、根治切除症例を対象としたため群全体の再発や死亡イベントの頻度が少なく統計学的な有意差がつきにくかった可能性は考えられる。再発後治療例は 22 例とさらに少なくなったが、CD133 高発現と GCLC 高発現は有意に予後不良となった。これはこれらの遺伝子を発現している細胞を多く含む肺腺癌が治療抵抗性である可能性を示唆している。また、肺腺癌細胞株では GCLC の強制発現によりシスプラチン耐性が誘導されたことから、GCLC は治療耐性に関わる因子であることが示唆された。しかし同じく酸化ストレス耐性機序に関わるとされる xCT と CD44v8-10 は、細胞株の実験においてはシスプラチン耐性を誘導したが臨床例の予後因子とはなっていなかった。この乖離の原因としては、xCT と CD44v8-10 は互いに結合することにより細胞膜上に安定化されているので mRNA レベルでの発現が著明に亢進していなくても生理活性が高い状態になっている可能性が考えられる。

【結論】

GCLC の腫瘍内での発現量は肺腺癌の治療効果予測因子となる可能性がある。