



# HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	肺癌におけるbiglycanの発現解析とバイオマーカーとしての可能性についての研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	森本, 浩史
Description	配架番号 : 2747
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第15481号
Issue Date	2023-03-23
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/90032">https://hdl.handle.net/2115/90032</a>
Rights(URL)	<a href="https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</a>
Type	doctoral thesis
File Information	MORIMOTO_Hirofumi_abstract.pdf, 論文内容の要旨



## 学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医学） 氏名 森本 浩史

### 学位論文題名

肺癌における biglycan の発現解析とバイオマーカーとしての可能性についての研究  
(Studies on biglycan as a possible marker for lung cancer)

【背景と目的】 腫瘍血管は癌細胞への酸素や栄養の供給に重要な役割を果たしている。血管新生阻害療法は、様々な種類の癌腫において臨床転帰を改善することが報告されているが、正常な血管内皮細胞 (Normal Endothelial Cell: NEC) にも作用することから、消化管穿孔・高血圧・出血などの重篤な副作用を引き起こすことが報告されている。そのため腫瘍血管内皮細胞 (Tumor Endothelial Cell: TEC) に特異的に作用する新規の血管新生阻害剤の開発が望まれている。

腫瘍血管は正常血管と比べて形態学的に異常があることは広く知られていたが、近年、腫瘍血管を構成する TEC も NEC と比較し様々な異常性や多様性があることが報告されてきた。我々の研究室では NEC よりも TEC でより高度に発現するいくつかの分子を特定し、その分子の一つとして、Biglycan (BGN) に着目した。BGN はプロテオグリカンで、低分子ロイシンに富んだ特徴的な配列を含んだ 40kDa 前後のコアタンパクに、二本のコンドロイチン硫酸またはデルマトン硫酸鎖を側鎖に持つ分子である。BGN は通常、マクロファージや線維芽細胞から分泌され、骨格筋・骨・軟骨の細胞外マトリックスに存在している。TLR2/4 や P2X7 受容体に結合し、炎症を惹起することから DAMPs の一つとされているが、炎症以外に組織の線維化や骨形成にも関与している。これまで BGN が腫瘍細胞の遊走を促進し、腫瘍細胞の血管内侵入および転移促進に働くことが報告されている。また、BGN は *in vivo* でヒトおよびマウスの腫瘍血管で強く発現し、担癌患者の血清中に分泌されていることも報告した。さらに、多くの癌種において、組織および血中の BGN の発現亢進が報告されており、一部の癌種では、腫瘍細胞を含めた腫瘍組織全体における BGN の発現亢進が、癌の進行度や患者の予後不良に関連している。しかし、腫瘍微小環境における BGN 発現や癌の進展との関係などについての報告はほとんどない。

肺癌は長い間、多くの国でがんによる死亡の主な死因となっている。非小細胞肺癌患者は、組織型や臨床病期に従って外科的治療や化学療法などの治療が行われる。CT ですりガラス状陰影 (Ground-Glass Opacity: GGO) を含む非小細胞肺癌は、良好な生存期間や腫瘍の低悪性度と相関することが知られている。これらの症例は肺葉切除や肺全摘除術ではなく区域切除や部分切除などのより低侵襲な縮小手術の適応が検討されてきており、根治性を損なうことなく、縮小手術の適応を選択するための低悪性度の指標が必要とされている。

申請者の所属する研究室では、これまで数例の結腸癌や肝細胞癌の臨床検体を用いて、健康者よりも担癌患者の血中 BGN 濃度は高く、その中でも転移症例において BGN が高く検出されていることを明らかとした。また免疫組織染色により、これらの血中 BGN は TEC 由来であることを確認した。これらの結果から、TEC における BGN 高発現が癌の悪性度と相関する可能性が示唆された。

本研究では肺癌臨床検体を用いて、肺癌腫瘍血管における BGN 発現や癌の悪性度との関係を解析した。また、肺癌患者の術前血中 BGN 濃度を測定し、血中 BGN 発現と腫瘍血管における BGN 発現との関係を解析することで、BGN のバイオマーカーとしての可能性についても

評価した。

【材料と方法】 北海道大学病院にて手術を施行された肺癌患者 155 症例の手術標本を用いて、腫瘍組織中の BGN 陽性血管の割合と予後との関係を解析した。切除腫瘍組織検体を用いて、血管内皮細胞マーカーである CD31 と BGN の免疫染色を連続切片で行った。次に腫瘍組織内で CD31 陽性血管を含むホットスポット 10 視野をランダムに選択し、ホットスポットにおける CD31 陽性血管と BGN 陽性血管の数を計測し、CD31 陽性血管における BGN 陽性率を解析した。

次に手術を施行された別の肺癌患者 46 症例を対象とし、担癌患者及び健常者の血清を用いて、BGN 濃度を ELISA 法で解析し、血中の BGN 発現と腫瘍血管における BGN 発現との関係を解析した。

【結果】 155 症例の肺癌患者の腫瘍組織内の BGN 発現と臨床病理学的因子との関係を解析した結果、組織型が扁平上皮癌を示す症例および T 因子が T3 以上の症例で腫瘍組織における BGN 発現が有意に高いことが分かった。腫瘍組織における BGN 発現と全生存率ならびに無再発生存率との関係解析では、BGN 高発現群で全生存期間および無再発生存期間ともに有意に短かった。予後予測因子の解析では、単変量解析により腫瘍血管における BGN 発現は予後不良と相関関係を認めたが、多変量解析では独立した予後予測因子とはならなかった。

他の 46 症例の肺癌患者の術前血清 BGN 濃度は同症例の腫瘍組織における BGN 発現有意な相関関係を認めた。

健常者・GGO 病変を伴う肺腺癌患者・GGO 病変を伴わない肺腺癌患者・腺癌以外の患者の 4 群間で血清 BGN 濃度を比較した。GGO 病変を伴う肺腺癌患者群では、GGO 病変を伴わない肺腺癌患者群と比較し血清 BGN 濃度が低い傾向にあり、腺癌以外の患者群と比較すると血清 BGN 濃度が有意に低かった。

【考察】 最近、BGN の発現は様々な種類の癌において、患者の予後や癌の進行に関連していることが報告されている。しかし、腫瘍組織における BGN 発現と患者の血中 BGN 発現との関連についての報告はいまだなく、本研究では腫瘍組織と肺癌患者の血中 BGN の発現およびその関連について解析した。肺癌 TEC における BGN 発現と患者の術前血清 BGN レベルの両方が、組織型や TNM 分類の T 因子と有意に関連していることが示された。さらに、患者の術前血清中の BGN レベルが TEC における BGN 発現と有意に相関することも分かった。

肺癌組織の非癌部では BGN 陰性であったが、TEC では BGN 陽性であった。BGN は線維芽細胞から分泌され線維組織でも発現されることが知られており、本研究でも、肺癌組織の腫瘍部では TEC だけでなく線維組織も BGN 陽性となり、腫瘍細胞は BGN 陰性であることを確認した。しかし、BGN は腫瘍組織だけでなく正常組織でも線維芽細胞から分泌されるため、線維組織での BGN 発現と腫瘍進展との関連についての解析は行わなかった。

CT 検査で pure-GGO を伴う孤立性肺腺癌の患者に対して完全切除を行った場合、疾患特異的 5 年生存率が 100%であることが複数の研究で示されている。実際には CT 検査で数 mm 程度の小さな GGO を認めた場合、良悪の判定は困難であり病変の増大を確認してから治療に移行することがある。病変増大の確認には頻回な CT 検査が必要になり患者の放射線被曝や高額な医療費などの問題がある。本研究により、比較的簡便で低侵襲な方法により測定された血中 BGN 濃度が肺腺癌患者の手術適応の時期や術式選択などの決定に役立つ可能性が考えられた。

本研究で、BGN が肺癌 TEC で発現し、TEC での BGN 発現が肺癌の進展と予後に関連していることを示した。さらに、術前血清における BGN レベルが TEC における BGN 発現および腫瘍の悪性度と有意に関連していることも示した。以上から、TEC における BGN 発現が肺癌の治療やフォローアップの方針決定に有用なバイオマーカーになり得ることが示唆された。

【結論】 肺癌の腫瘍組織における BGN 発現は腫瘍の進展度や予後と有意な相関関係を認めた。また、術前血清 BGN 濃度は腫瘍組織内の BGN 発現と相関し、がんの悪性度と相関を認めた。BGN が肺癌のバイオマーカーとして有用である可能性が示唆された。