

非喫煙者肺癌の発症における微量元素の影響の検討

千葉亮祐¹、森川直人¹、世良耕一郎²、細川貴子³、守口 知¹、齋藤平佐¹、重枝 弥⁴、
出口博之⁴、友安 信⁴、谷田達男⁴、山内広平¹、石田和之⁵、菅井 有⁵、前門戸 任¹

¹岩手医科大学内科学講座呼吸器・アレルギー・膠原病内科
020-8505 盛岡市内 19-1

²岩手医科大学サイクロトンセンター
020-0603 岩手県滝沢市留が森348-58

³日本アイソトープ協会サイクロトンセンター
020-0603 岩手県滝沢市留が森348-58

⁴岩手医科大学呼吸器外科学講座
020-8505 盛岡市内丸19-1

⁵岩手医科大学病理診断学講座
020-8505 盛岡市内丸19-1

1はじめに

肺癌は一般的に喫煙と強い関連を持つが、近年、非喫煙者の肺癌が増加傾向であり、その発症メカニズムは明らかになっていない。肺は外気と接する部位であるため、吸入された物質による発がんへの影響を示唆する報告がある。Radon (Rn) をふくむ幾つかの微量元素は、癌抑制遺伝子である TP53 遺伝子異常の誘因となり、発がんの契機となる可能性も報告されており^{1,2}、微量元素が肺癌、特に非喫煙者肺癌の発症の上で重要な役割を果たしている可能性がある。

肺癌と微量元素の関連を見た研究の多くは環境調査や疫学研究、in vitro での検討であり、臨床検体を用いて組織中の微量元素を直接測定した研究は非常に少ない。

また、EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor) 遺伝子変異や ALK (Anaplastic Linpho) 融合遺伝子などの、いわゆる Driver Mutation は非喫煙者における頻度が高く、非喫煙者肺癌の発がんに強く関連していると考えられている。

Driver Mutation は若年の肺腺癌に多いが、これらの Driver Mutation が生じるメカニズムは不明であり、微量元素の関係をみた研究は今までない。

以上の背景をもとに、本研究では「微量元素の慢性的な吸入・蓄積が、非喫煙者の肺癌、とりわけ Driver Mutation をもつ肺癌の発がんに関連している」という仮説を検討するため、非喫煙者肺癌

(Driver Mutation を持つ症例を含む)、喫煙者肺癌、健常肺の 3 群について、当院呼吸器外科での手術検体を用いて、微量元素の集積を検査し比較した。

2 対象および方法

2.1 対象患者

2011 年 4 月から 2015 年 3 月までに当院呼吸器外科にて肺癌の切除をうけた患者のうち、病理標本が利用可能な症例を対象とした。また、健常肺のコントロールとしては、非結核性抗酸菌症や良性腫瘍など非腫瘍性疾患により手術を行った患者の切除標本を用いた。

2.2 症例

非喫煙肺腺癌症例について、EGFR 遺伝子変異陽性例を 20 例、陰性例を 20 例、喫煙歴のある扁平上皮癌症例を 20 例、非癌症例を 20 例、計 80 例を使用した。

2.3 標本作製

それぞれの症例について術後パラフィン包埋検体の腫瘍部を 4 μm で薄切し、未染パラフィン切片を 2 枚作成した。

2.4 元素解析 (PIXE : 仁科記念サイクロトロンセンター)

検体に対し、「無標準法」に基づき PIXE 測定用試料を作成。PIXE 法により微量元素の濃度を測定。肺癌やその他の肺疾患と微量元素の関係に関し喫煙歴の有無や組織型、Driver Mutation (EGFR 遺伝子変異) の有無をもとに検討した。

3 結果

患者背景については表 1 の通りとなっている。年齢中央値は 70 歳。コントロールである非癌症例と比較し、腺癌症例で女性が多く、扁平上皮癌症例では男性が多い傾向があった。遺伝子変異陽性肺腺癌の mutation type は全例 common mutation であった。

| | Control | LADC m+ | LADC m- | SCC |
|-------------------------------------|------------|------------|------------|--------------|
| Age | | | | |
| median (range) | 63 (27-79) | 70 (50-80) | 67 (45-79) | 73.5 (54-85) |
| Gender | | | | |
| Female | 9 | 19 | 13 | 1 |
| Male | 11 | 1 | 7 | 19 |
| Smoking history (Pack-Year : PY) | | | | |
| never | 0 | 20 | 20 | 0 |
| PY<30 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| 30≤PY | 7 | 0 | 0 | 20 |
| EGFR mutation type | | | | |
| Ex19 | - | 14 | 0 | - |
| Ex21 | - | 6 | 0 | - |

表 1

Lung adenocarcinoma with EGFR mutation(LADC m+)

LADC without EGFR or ALK mutation (LADC m-)

Squamous cell carcinoma (SCC)

非癌症例と比較し、測定値に有意差があった元素について表 2 にまとめた。遺伝子変異がない肺腺癌においては Co が有意に高値であり (図 1)、遺伝子変異陽性肺腺癌においては Fe が特に有意差をもって高値だった (図 2)。遺伝子変異の有無を問わず肺腺癌症例において、P と S が有意に高値だった (図 3、図 4)。扁平上皮癌においては Sr が有意に低値だった (図 5)。

| |
|--|
| Control : tissue from patients without cancer ; p<0.05 (*: p<0.01) |
| LADC wt: Co* |
| LADC EGFRm+: Fe*, Na, K, Cu, Zn |
| LADC (wt & EGFRm+): P*, S*, Br |
| Squamous cell carcinoma (SCC): Sr |
| No significant difference : Mg, Al, Si, Ca, Ti, V, Cr, Mn, Ni, Ga, As, Se, Rb, Y, Zr, Hg, Pb |
| Not detected; Ge, Pd, Ag, Cd, In, Sn, Sb, Te, I, Cs, Ba, Ce, W, Pt, Au |

表 2

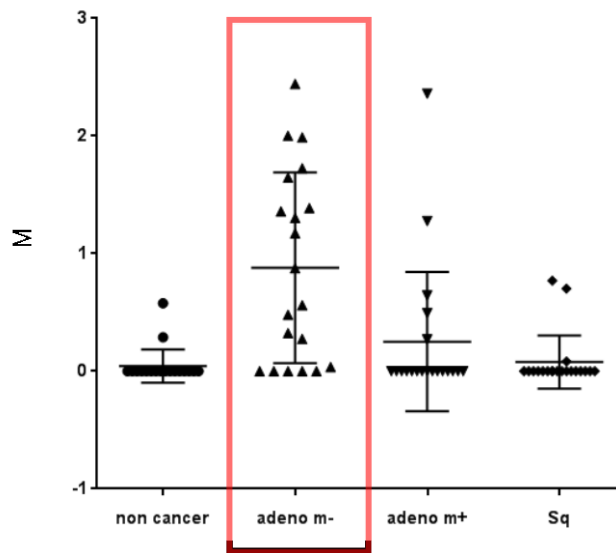


図 1: Co

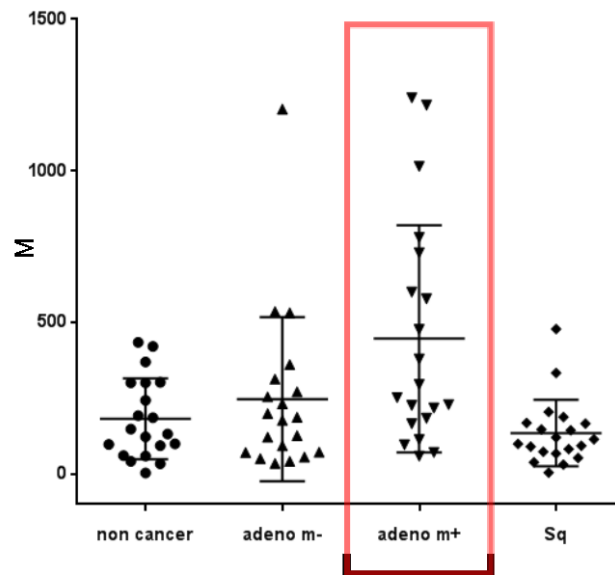


図 2 : Fe

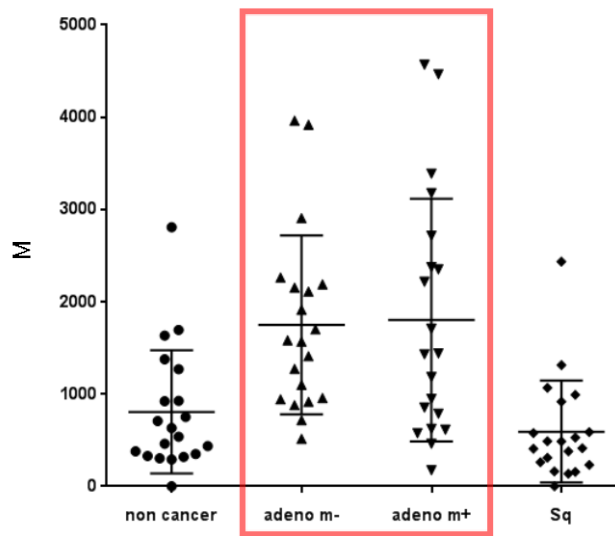


図 3 : P

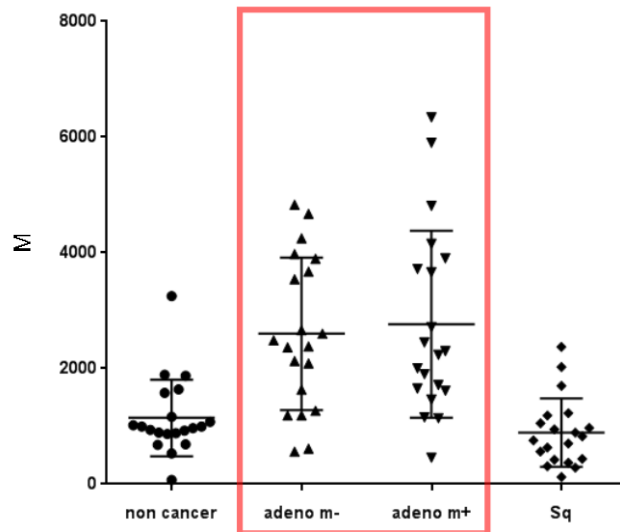


図 4 : S

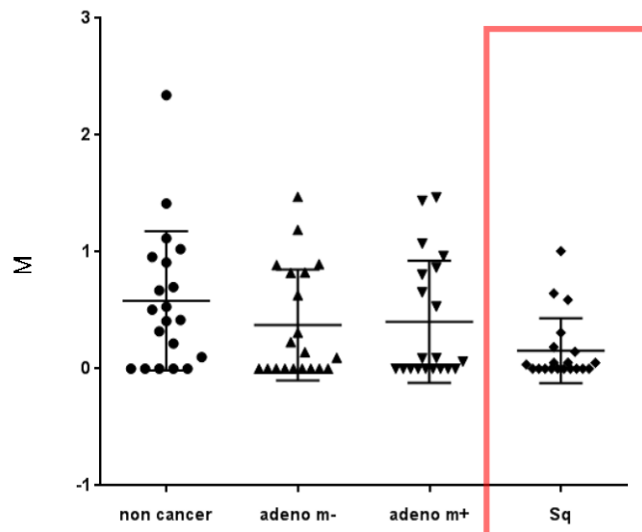


図 5 : Sr

4 考察とまとめ

非癌症例と比較し、いくつかの元素において測定値に有意な差がみられた。これまでの先行研究では体内の鉄の過剰による酸化ストレスの増加が発がんに関与している可能性が報告されている³。慢性的なコバルトの吸入がチロシンキナーゼ活性を高めて発がんに影響する可能性も示唆されている⁴。ストロンチウムは発がんに影響する染色体へのダメージを減らす役割があることが示唆されており、低下により癌化を促す可能性がある⁵。今後同一症例での正常組織の元素測定も含めて追加解析の予定である。

参考文献

- 1) Harley NH1, Chittaporn P, Heikkinen MS, et al. Radon carcinogenesis: risk data and cellular hits. *Radiat Prot Dosimetry* 130(1): 107-9, 2008
- 2) Milner J, Clive Shrubsole C, Das P, et.al. Home energy efficiency and radon related risk of lung cancer. modelling study. *BMJ* 348: f7493 doi, 2013
- 3) Toyokuni S. Iron-induced carcinogenesis: the role of redox regulation. *Free Radic. Biol. Med.* 20, 553–566, 1996
- 4) *Kras*, *Egfr*, and *Tp53* Mutations in B6C3F1/N Mouse and F344/ NTac Rat Alveolar/Bronchiolar Carcinomas Resulting from Chronic Inhalation Exposure to Cobalt Metal. *Toxicol Pathol.* 43(6): 872–882, 2015
- 5) Bai et al, Essential Metals Zinc, Selenium, and Strontium Protect against Chromosome Damage Caused by Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Exposure. *Environ Sci Technol.* 19;50(2):951-60. Doi, 2016

The chemical elements in lung tissue and lung cancer subtypes

Ryosuke Chiba¹, Naoto Morikawa¹, Koichiro Sera², Takako Hosokawa³,
Satoshi Moriguchi¹, Heisuke Saito¹, Wataru Shigeeda⁴, Hiroyuki Deguchi⁴,
Makoto Tomoyasu⁴, Tatsuo Tanita⁴, Kazuyuki Ishida⁵, Tamotsu Sugai⁵,
Kohei Yamauchi¹ and Makoto Maemondo¹

¹Division of Pulmonary Medicine, Allergy and Rheumatology, Department of Internal Medicine,
School of Medicine, Iwate Medical University
19-1 Uchimaru, Morioka, Iwate 020-8505, Japan

²Cyclotron Research Center, Iwate Medical University
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0603, Japan

³Nishina Memorial Cyclotron Center, Japan Radioisotope Association
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0603, Japan

⁴Department of Respiratory Surgery, School of Medicine, Iwate Medical University
19-1 Uchimaru, Morioka, Iwate 020-8505, Japan

⁵Department of Molecular Diagnostic Pathology, School of Medicine, Iwate Medical University
19-1 Uchimaru, Morioka, Iwate 020-8505, Japan

Abstract

Background: The cause and mechanism of lung cancer in “never smokers” are still unclear. Additionally, the onset of driver mutations (e.g., *EGFR*, *ALK*) and the mechanism of their ethnic difference are unclear. Several studies have suggested that some trace elements may affect the onset of lung cancer. However, the effect of trace elements on lung cancer carcinogenesis is poorly understood. The aim of this study was to assess if trace elements may be the cause of carcinogenesis in lung cancer tissues of patients with lung cancer with a non-smoking history, driver mutations, or histology.

Methods: The study included patients with non-small cell lung cancer who had undergone surgical resection. For the measurement of trace elements, surgically resected formalin-fixed paraffin-embedded lung cancer samples were studied using particle induced X-ray emission analysis. In total, 54 elements were investigated in each sample. *EGFR* mutation and *ALK* rearrangement were assessed using commercially available CLIA testing. Based on the pathology and driver mutation status, samples were classified into the following groups: lung adenocarcinoma (LADC) with *EGFR* mutation (LADC *EGFR*m+); LADC without *EGFR* mutation and *ALK* rearrangement (LADC wt); and lung squamous cell carcinoma (SCC). Tissues from 20 patients with a non-malignant disease (e.g., pneumothorax) were also analyzed for trace elements as controls.

Results: In total, 60 patients with non-small cell lung cancer were included. The median patient age was 70years. Of the 60 patients, 27 (45%) were males. Cobalt was increased in the LADC wt group. Iron was increased in the LADC EGFRm+ group. Phosphorus and Sulfur were increased in the LADC group. In patients with squamous cell carcinoma, the amount of strontium in the tissue was significantly decreased.

Conclusion: Trace elements may play a role in the pathology and molecular signature of lung cancer.