

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 中村 隆人
学位 博士 (医学)
学位記番号 新大院博 (医) 第 673 号
学位授与の日付 平成 28 年 3 月 23 日
学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当
博士論文名 SSA/P 由来早期大腸の分子病理学的検討

論文審査委員 主査 教授 味岡 洋一
副査 教授 寺井 崇二
副査 教授 佐藤 祐一

博士論文の要旨

【背景と目的】SSA/P (sessile serrated adenoma/polyp) は鋸歯状管腔構造を特徴とする大腸の上皮性増殖性病変のひとつであり、MSI-H (microsatellite instability-high: マイクロサテライト不安定) 大腸癌の前駆病変として位置づけられるようになってきた (serrated neoplasia pathway: SNP)。SNP では、BRAF 変異を initial mutation として、CpG island methylation の蓄積 (CpG island methylation phenotype: CIMP)、ミスマッチ修復遺伝子 MLH1 の methylation による機能不全、MSI-H を経て大腸癌が発生・生長すると考えられているが、病理組織学的に SSA/P に由来することが確認された大腸癌 (SSA/P 由来癌) を対象として、これら遺伝子異常の網羅的解析を行った研究はない。本研究では、SSA/P 由来癌が実際に SNP で起きるとされている遺伝子変異を伴っているのか、遺伝子変異のパターンに多様性があるのかどうか、について検討した。

【方法】外科切除および内視鏡的切除早期大腸癌 5, 108 例から抽出された SSA/P 内癌 37 例 (pTis (M) 癌 28 例、pT1 (SM) 癌 9 例) を検討対象とした。対照は、発生部位と深達度をマッチングさせた管状腺腫内癌 (以下腺腫内癌) 37 例とした。SSA/P 内癌と腺腫内癌の癌部をそれぞれ SSA/P 由来癌、腺腫由来癌と定義した。パラフィンブロックから 3 μ m 切片で HE 染色、MLH1 蛋白に対する免疫染色を行い、10 μ m 切片から DNA を抽出し、BRAF、KRAS、p53 の遺伝子変異の有無、CIMP と MSI の解析を行った。

【結果】免疫染色では、SSA/P 由来癌では腺腫由来癌に比べ有意に MLH1 蛋白の喪失が認められた (81. 1% vs 0%: $p < 0. 001$)。遺伝子解析では、SSA/P 由来癌は BRAF 変異率 (78. 1%)、CIMP+ 頻度 (94. 6%)、MSI-H 頻度 (83. 8%) が高く、腺腫由来癌とは有意差があった ($P < 0. 001$)。一方、SSA/P 由来癌の KRAS 変異率 (3. 1%)、p53 変異率 (9. 4%) は腺腫由来癌に比べ有意に低かった ($P < 0. 001$)。SSA/P 由来癌 32 例の遺伝子解析結果を層別化すると、SSA/P 由来癌は、A 群 [BRAF+, KRAS-, CIMP+, MSI-H, p53-]: 56. 3% (18/32)、B 群 [BRAF+, KRAS-, CIMP+, MSS, p53+ or -]: 15. 6% (5/32)、C 群 [BRAF-, KRAS-, CIMP+, MSI-H, p53-]: 18. 8% (6/32)、その他: 9. 3% (3/32) の 4 群に大別された。

【考察】SSA/P 由来癌は BRAF 変異、CIMP+、MSI-H、MLH1 遺伝子の methylation により生ずる MLH1 蛋白の発現喪失、の頻度は 78. 1% (BRAF 変異率) ~ CIMP+ (94. 6%) と高く、いずれも対照とした腺腫由来癌とは有意差があった ($p < 0. 001$)。他方、SSA/P 由来癌の KRAS、p53 変異率は 3. 1%、9. 4% と低く、腺腫由来癌 (そ

れぞれ 35.1%と 64.9%) とは有意差があった ($P < 0.001$)。SNP は、SSA/P と MSI-H 大腸癌との臨床病理学的および分子病理学的特徴の共通性から想定されたものであるが、本研究は SSA/P が SNP の起点となることを、遺伝子変異の観点からも直接検証したものであると考えられる。他方、個々の症例の遺伝子解析結果の層別化から、SNP に関連する遺伝子異常には多様性が存在することも明らかとなった。SNP で想定されている遺伝子異常パターン (A 群) の他、MSI-H の代わりに p53 異常が癌化に関与するものや、BRAF 変異が必ずしも initial mutation ではないものも存在すると考えられた。SSA/P 由来癌で共通してみられる遺伝子異常は CIMP+であり、SSA/P を起点とする SNP は、CIMP+で特徴付けられる大腸癌の発生経路と考えられた。

審査結果の要旨

SSA/P は MSI-H 大腸癌の前駆病変として位置づけられている (serrated neoplasia pathway:SNP)。SNP では BRAF 変異、CIMP (CpG island methylation phenotype)、MSI-H、を介する大腸癌の発生経路と考えられている。本研究は、SSA/P 由来癌における SNP 遺伝子変異の検証を目的として、遺伝子異常の解析を行った。SSA/P 内早期大腸癌 (SSA/P 由来早期癌) 37 例と、発生部位・深達度をマッチングさせた腺腫内癌 (腺腫由来癌) 37 例を対象とした。SSA/P 由来癌は腺腫由来癌に比べ有意に MLH1 蛋白が喪失し (81.1% vs 0%: $p < 0.001$)、BRAF 変異率 (78.1%)、CIMP+頻度 (94.6%)、MSI-H 頻度 (83.8%) が高く、腺腫由来癌とは有意差があった ($P < 0.001$)。SSA/P 由来癌の遺伝子解析結果は、A 群 [BRAF+, KRAS-, CIMP+, MSI-H, p53-] : 56.3% (18/32)、B 群 [BRAF+, KRAS-, CIMP+, MSS, p53+ or -] : 15.6% (5/32)、C 群 [BRAF-, KRAS-, CIMP+, MSI-H, p53-] : 18.8% (6/32)、その他 : 9.3% (3/32) の 4 群に層別化された。これらの結果から、SSA/P 由来癌には SNP で想定されている遺伝子変異が起きていることが検証された。一方、その遺伝子変異パターンには多様性が存在し、SSA/P を起点とする SNP は CIMP+で特徴付けられる大腸癌の発生経路と考えられた。

以上より、本研究は、SSA/P が SNP の前駆病変であることを分子病理学的検証した点と、SSA/P の遺伝子変異には多様性があるが、CIMP+で特徴付けられることを明らかにした点で、学位論文としての価値を認める。