

授与番号	甲第 1835 号
------	-----------

論文内容の要旨

Traditional serrated adenoma has two distinct genetic pathways for molecular tumorigenesis with potential neoplastic progression
(Traditional serrated adenoma の腫瘍形成に関わる異なる 2 種類の分子発生経路の解析)
(田中義人, 永塚真, 上杉憲幸, 川崎啓祐, 山野泰穂, 鈴木拓, 松本主之, 菅井有)
(Journal of Gastroenterology (投稿審査中))

I. 研究目的

現在, 大腸鋸歯状病変は Hyperplastic polyp (HP), Sessile serrated lesion (SSL), Traditional serrated adenoma (TSA) の 3 つに大別されており, 特に SSL と TSA は前癌病変として位置付けられている. SSL は BRAF 変異や CpG island-methylated phenotype (CIMP) といった特徴的な分子異常を示し, microsatellite instability (MSI)-high 大腸癌の前駆病変と考えられている. 一方, TSA は BRAF 変異を有する病変と KRAS 変異を有する病変が存在するとされているが, 両者の臨床病理学的特徴や発育進展, 分子メカニズムについてはいまだ不明な点が多い.

本研究では BRAF 変異陽性 TSA と KRAS 変異陽性 TSA の臨床病理学的特徴および前駆成分を随伴する TSA の免疫組織化学, 遺伝子解析により, 両者の前駆病変から TSA への進展過程における分子メカニズムを検討することとした.

II. 研究対象ならび方法

2014 年 1 月から 2018 年 3 月に当講座で病理診断を行った大腸内視鏡切除検体のうち病変基部に前駆成分を有する TSA60 病変を対象とした.

まず, 各病変の病理標本 (HE 染色) を確認し, 同一切片内に前駆成分と TSA 成分を有する代表切片を選定した. 次に同切片のホルマリン固定後パラフィン包埋標本より連続切片を作製し, 免疫組織化学 (MUC2, MUC5AC, MUC6, CD10, Annexin A10) による各種蛋白発現を前駆, TSA 各成分で評価した. また, 遺伝子解析 (BRAF 変異, KRAS 変異, DNA メチル化, MSI) も各成分でマイクロダイセクション, DNA 抽出を行い, 成分ごとに評価を行った.

最終的に対象病変を BRAF 変異陽性群と KRAS 変異陽性群に分け, 両者の臨床病理学的特徴 (性別, 年齢, 腫瘍径, 存在部位, 肉眼形態) や各成分における免疫組織化学, 遺伝子解析の結果を検討した. 統計解析は Fisher's exact test, McNemar's test, Kruskal-Wallis test, Bonferroni 補正を行った Mann-Whitney U-test を用いた.

III. 研究結果

1. BRAF 変異陽性群（以下 Type A）は 61.7% (37/60), KRAS 変異陽性群（以下 Type B）は 38.3% (23/60) であった. さらに Type A は前駆成分に BRAF 変異を有する Type A1 (46.7%, 28/60) と BRAF 変異を有さない Type A2 (15.0%, 9/60) に分類できた. Type B は全例, 前駆成分にも KRAS 変異を有していた.
2. Type A1 は Type A2, B に比べ, 男性が多く, 年齢の中央値も 59.5 歳と低い結果であった. 腫瘍径の中央値は Type A2 が Type A1, B に比べ小さく, 8mm であった. Type A1, A2 はそれぞれ 85.7% (24/28), 88.9% (8/9) が隆起型病変であったが, Type B は 65.2% (15/23) が隆起を伴う平坦型病変であった.
3. Type A1, A2 の前駆成分は Microvesicular hyperplastic polyp 類似の組織像であり, それぞれ 85.7% (24/28), 77.8% (7/9) が同部で MUC5AC 陽性を示したが, Type B の前駆成分は表層に鋸歯状構造を伴う腺腫様の組織像であり, 同部で MUC5AC 陽性を示した病変も 13.0% (3/23) と低い結果であった. Annexin A10 は Type A2 の前駆成分で 55.6% (5/9) が陽性を示し, 0% であった Type B の前駆成分との間で有意差を認めた. また, Type A1 では前駆成分で 17.9% (5/28), TSA 成分で 53.6% (15/28) が陽性を示し, TSA 成分において Annexin A10 の発現上昇を認めた.
4. Type A1 の DNA メチル化解析では成分間のメチル化状態に有意差を認めており, 前駆成分では 64.3% (18/28) が低メチル化を示したが, TSA 成分では低メチル化は 21.4% (6/28) であり, 中メチル化が 64.3% (18/28) を示していた. 一方, Type A2, B では成分間のメチル化状態に有意差を認めなかった. MSI は全例認めなかった.

IV. 結 語

Type A および B の前駆病変は病理組織像, 粘液形質の点で異なる特徴を有し, さらにそれらから進展した TSA の肉眼形態にも違いを認めた. Type A1 では前駆病変から TSA への進展過程において Annexin A10 と DNA メチル化が関与していることが示唆された. 一方, Type A2 では既に前駆病変の段階からの Annexin A10 が関与しており, BRAF 変異により TSA へ進展することが示唆された. 本研究における一連の結果から TSA は 2 種類または 3 種類の分子発生経路から進展する不均一な腫瘍であることが示唆された.

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 西塚 哲 (医療開発研究部門)

副査 准教授 中村 昌太郎 (内科学講座消化器内科消化管分野)

副査 講師 刑部 光正 (病理診断学講座)

大腸の粘膜内腫瘍性病変は大きく分けて通常型と鋸歯状型に分類される。本論文では、後者のうち大腸の前がん病変として重要な鋸歯状腺腫(traditional serrated adenoma, TSA)と対応する前駆病変に着目し、TSA への進展過程について免疫組織染色(MUC2, MUC5AC, MUC6, CD10, Annexin A10)および遺伝子解析(*BRAF*, *KRAS*, DNA メチル化, microsatellite instability)を行い臨床病理学的因子との関連を検討した。対象とした60症例のうち、*BRAF*変異を有するもの(Type A)は61.7%(37/60)、*KRAS*変異を有するもの(Type B)は38.3%(23/60)に認められた。Type A と Type B の病理組織像および免疫染色の比較では、その前駆病変およびTSAにおいて異なっていた。前駆病変で*BRAF*変異を有するものは、Annexin A10 およびDNA メチル化がTSA への進展に関与しているが、*BRAF*変異を有さないものは前駆病変の段階からAnnexin A10 が関与しており、*BRAF*変異が加わることでTSA へ進展することが示唆された。これらのことから、本論文ではTSAは複数の分子経路を経て発生する腫瘍であることを示した。

本論文は、TSAの発生経路をもとに大腸粘膜内鋸歯状病変の病理診断に分子生物学的な根拠を与えうる研究と言える。学位に値する論文である。

試験・試問の結果の要旨

BRAF/KRAS 遺伝子解析結果、研究デザイン、および分子経路の同定が病理診断に与える将来的な可能性について試問を行い、適切な解答を得た。学位に値する学識を有していると考えられる。また、学位論文の作成にあたって、剽窃・盗作等の研究不正は無いことを確認した。

参考論文

- 1) 大腸鋸歯状病変の病理診断の課題と将来展望 (菅井有, 他2名と共著)
胃と腸, 54巻, 11号 (2019) : p1491-1501
- 2) 大腸 (菅井有, 他2名と共著)
胃と腸, 37巻, 8号 (2019) : p748-756