

論文内容の要旨

腫瘍グレードに基づいた分化型早期胃癌の分子病理学的解析
(織笠俊輔, 菅井有, 松井雄介, 杉本亮, 遠藤昌樹, 千葉俊美)
(岩手医学雑誌 65 巻, 3 号 平成 25 年 8 月掲載(予定))

I. 研究目的

分化型胃癌は異型度の違いにより臨床病理学および分子病理学的特徴に差異があることが指摘されている。これまで核異型度に基づく分類を用いた低異型度癌の分子異常解析は報告されているが、核異型度だけにに基づく分類では癌の臨床病理学的特徴を十分に反映しているとは言い難い。癌の異型度は核異型(細胞異型)と構造異型で規定されているので、胃粘膜内癌の場合も構造異型を含めた新しい腫瘍グレードを規定する必要があるものと思われる。我々は核異型と構造異型の観点から粘膜内癌の組織学的腫瘍グレードを独自に定義し、それぞれ低グレード、中等度グレードおよび高グレードと分類し臨床病理学的検討を行ってきた。その結果では、腺腫と粘膜内癌の各グレード腫瘍群との比較において、腺腫と低グレード癌では臨床病理学的に共通点が多いことが明らかになった。一方粘膜下層への浸潤に関しては、低グレード癌では浸潤する可能性が低いものの、中等度グレード以上の癌では粘膜下層に浸潤する可能性がある。このことは低グレード癌と中等度、高グレード癌の生物学的差異を示している可能性があり、粘膜内癌のグレード化の臨床病理学的正当性を表しているものと思われる。上記のことから、胃粘膜内癌を構成する各癌細胞のグレード分類の臨床病理学的、分子病理学的意義を明らかにすることが、胃粘膜内癌の診断・治療にも必要であると思われる。そこで本研究では、内視鏡的胃粘膜下層剥離術(endoscopic submucosal dissection; ESD)によって得られた早期分化型胃癌を腫瘍グレード別に分類し、これに基づいた分化型胃癌の臨床病理学および分子病理学的特徴を明らかにすることを目的とした。

II. 研究対象ならび方法

平成 20 年から 22 年の間に岩手医科大学消化器肝臓内科で ESD により得られた分化型胃癌 106 例(男女比: 83/23, 平均年齢: 71.1)を対象とした。切除標本から腫瘍部、非腫瘍部の新鮮材料を採取し、DNA を抽出した。残りの材料は 10%緩衝ホルマリンで固定し、胃癌取り扱い規約に従って HE 染色標本を作成した。粘膜下層浸潤癌においてもサンプル採取部位は全て粘膜内癌部分であった。腫瘍のグレード分類は菅井らの基準に従って分類した。新鮮材料を採取した近傍の組織切片に対し各種免疫組織化学染色を行った。粘液形質の判定は胃型、腸型、混合型、分類不能型の 4 型に分類した。分子異常解析は Loss of heterozygosity (LOH) 解析とメチル化解析を行った。LOH は PCR-マイクロサテライト法を用いて行い、メチル化解析は各遺伝子のプロモーター領域についてパイロシークエンス法を用いて行った。LOH 状態は解析された 10 個のマーカーの中で LOH が 50%以上蓄積されているものを高 LOH 状態とし 50%未満を低 LOH 状態とした。一方メチル化状態については、10 個のマーカーの中で 50%以上メチル化陽性であったものを高メチル化状態、それ未満

のものを低メチル化状態とした。各々2群間の統計解析は χ^2 検定で行い、 $p < 0.05$ を有意差ありと判定した。

III. 研究結果

腫瘍グレード別の内訳は低グレード癌 30 例，中等度グレード癌 50 例，高グレード癌 26 例であった。臨床病理学的検討では低グレード癌，中等度グレード癌では高分化型癌の頻度が高く，高グレード癌では中分化型癌の頻度が高かった。また，高グレード癌では粘膜下層への浸潤例が多かった。低グレード癌，中等度グレード癌ではLOH率およびp53の過剰発現に差異はみられなかったが，高グレード癌ではそれらの頻度は高かった。一方，メチル化率は中等度グレード癌，高グレード癌では差異はみられなかったが，低グレード癌では前者と比較して頻度が高かった。

IV. 結 語

本研究では腫瘍グレード間には臨床病理学的に明確な差異があることが示された。胃癌の発生にはメチル化の蓄積が重要な役割を担っているが，高グレード癌の発生はp53の過剰発現やゲノムレベルの異常が重要であることが示された。低グレード癌は分子異常の観点からは中等度グレード癌，高グレード癌とは異なる腫瘍群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 鈴木 一幸 (内科学講座: 消化器肝臓内科分野)

副査 教授 若林 剛 (外科学講座)

副査 教授 菅井 有 (病理学講座: 分子診断病理学分野)

癌細胞のグレードは膀胱癌や大腸腫瘍などの多くの癌で悪性度や予後と関連しているとされている。しかしながら、胃癌においてはこれまで癌細胞のグレード化の試みはほとんどなされてこなかった。本論文は、分化型早期胃癌を菅井らが提案した腫瘍グレードに基づいて分類し、臨床病理学的及び分子病理学的な特徴を明らかにすることを目的にした。

本検討では低グレード癌群と比較して有意に中等度及び高グレード癌群で粘膜下層以深への浸潤例が多かった。一方 p53 過剰発現は高グレード癌群で低および中等度グレード癌群に比べ有意に多く、p53 過剰発現は腫瘍細胞の高グレード化に関与していることが示された。

各遺伝子のメチル化頻度はいずれのグレード群でも比較的高率にみられたが、*SFRP1*, *DKK2*, *mir34b/c* は低グレード癌において特に頻度が高く、これらの遺伝子のメチル化は低グレード癌の発生を特徴づけている分子異常である可能性が示唆された。LOH 解析では 17p, 18q 及び 22q の LOH が、高グレード癌群で他の各群間と比べ有意に高く、これらの染色体領域の LOH は高グレード癌の発生に密接に関与している可能性が示唆された。

以上の結果から、本グレード分類は臨床病理学的にも分子病理学的にも腫瘍の悪性度を反映していることが示唆された。

本研究は粘膜内癌のグレード分類が癌の悪性度や分子異常と密接に関連していることを明らかにした初めての論文である。学位に値する。

試験・試問の結果の要旨

分化型早期胃癌の分子病理学的および臨床病理学的解析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。

参考論文

- 1) 胃腺腫と腫瘍グレードに基づいた分化型粘膜内胃癌の臨床病理学的および分子病理学的解析 (菅井有, 他 11 名と共著)
胃と腸 47 巻, 2 号, (2012)
- 2) 大腸癌における癌腺管と背景粘膜の非腫瘍性腺管の DNA メチル化解析 (吉田雅一, 他 5 名と共著).
岩手医学雑誌, 64 巻, 5 号, (2012)