

## 論文内容の要旨

Genome-wide analysis of DNA copy number alterations in early and advanced gastric cancers

(早期胃癌と進行胃癌に対する DNA copy number alteration の網羅解析)

(荒川典之, 菅井有, 幅野渉, 永塚真, 杉本亮, 赤坂理三郎, 鳥谷洋右, 山本英一郎, 肥田圭介, 佐々木章, 松本主之, 鈴木拓)

(Molecular carcinogenesis 56 巻 2 号 平成 29 年 2 月掲載)

### I. 研究目的

一般的に癌の分子異常はゲノムの不安定性により特徴づけられている。消化管癌ではゲノムの不安定性による代表的な 2 つの分子発癌機構が癌の発生, 進展に関与している事が知られており, 染色体レベルの異常を特徴とする chromosomal instability (CIN) とマイクロサテライト領域の異常を特徴とする micorsatellite instability (MIN) に大別される。Copy number variation (CNV) は全染色体レベルの DNA コピー数異常であり, CIN を代表するゲノム異常の一つと考えられている。早期癌と進行癌の分子異常の差を理解することは, 胃癌の診断, 治療の観点からも重要である。今回我々は CNV 解析を用いて早期胃癌及び進行胃癌における染色体レベルの異常を検出し, 癌の進行に関連する染色体変化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

岩手医科大学内科学講座消化器内科消化管分野で内視鏡的切除された早期胃癌 45 例, 外科学講座で外科的切除された進行胃癌 20 例を対象とした。早期胃癌では内視鏡的切除標本より生検鉗子で癌部と非癌部の組織片を採取し, 各々 DNA を抽出した。切除検体はホルマリン固定後, 組織学的に採取部位が適切か評価し, 適切な検体のみを対象とした。進行胃癌では新鮮切除標本より癌部と非癌部の組織を各々採取し, 腺管分離法にて腺管を単離した。単離された腫瘍腺管と非腫瘍腺管より DNA を抽出した。DNA を利用して, SNP array を用いた CNV 解析を行った。Illumina Human CytoSNP-12 Bead Chip を用い, 染色体コピー数増加 (gain), 染色体コピー数減少 (Loss of heterozygosity, LOH) 及び染色体増加を伴わない減少領域 (copy neutral LOH, CN-LOH) を検出した。各染色体領域における両者の CNV 頻度を算出し, 各異常領域の DNA サイズの総和を比較検討した。

### III. 研究結果

#### 1. 早期胃癌におけるゲノム異常

CNV 領域の平均個数は 145.9 箇所 (gain 113.7 箇所, LOH 5.1 箇所及び CN-LOH は 27 箇所)であった. 高頻度の CNV 異常領域 (30%以上)は gain では 12 箇所に認められたが, 特に 8q23.3 (42.2%), 8q23.2 (40.0%), 8p22-23.1 (37.8%), 9p13.1 (37.8%), 8p11.21-11.23 (35.8%), 8p12-21.3 (35.8%)における頻度が高かった. LOH では 30%以上の領域は認められなかったが, 3p14.2 の頻度が最も高かった (24.2%). CN-LOH の頻度は低かった (0-17.8%).

#### 2. 進行胃癌におけるゲノム異常

CNV 領域の平均個数は 331.8 箇所 (gain 197.7 箇所, LOH 27 箇所及び CN-LOH, 108 箇所)であった. 50%以上の高頻度の CNV 領域は gain では 16 箇所に認められ, 特に 8q24.21 (65%), 8q24.3 (60%)での頻度が高かった. LOH では 11q24.3-25, 11q23.2-24.1, 11q14.1, 12p11.21-13.33, 3p14.2 の領域で 30%以上の異常が認められた. 50%以上の高頻度の CN-LOH は 11q21, 11q13.3-14.3, 11q11, 11p13-15.3, 12q21.1, 12q12-13.3, 5q33.3-35.1 に認められた.

#### 3. 早期胃癌と進行胃癌の差異

両者の間で異常頻度に有意差 ( $p < 0.01$ )が認められた異常は 12q22-q23.2, 12q21.33, 11p12, 11p14.1, 12q21.31-32.32, 3p12.3, 3p14.1, 10p15.1, 1q24.2, 2q12.1 の gain 及び 14q32.11-32.33, 14q21.3, 14q11.2, 5q11.2, 5q13.3, 14q21.1-23.2, 14q13.2-13.3, 5q12.1-12.3, 5q11.1, 17p13.3 の CN-LOH であった. 両者に共通して頻度が高かった異常は 8q24.21 と 17q12 の gain 及び 3p14.2 の LOH であり, *c-Myc*, *ERBB2* 及び *FHIT* の遺伝子座に相当していた.

#### 4. 早期胃癌と進行胃癌の染色体異常領域サイズの差異

全 CNV 領域の総和は早期胃癌と比較して進行胃癌で有意に長く ( $p < 0.001$ ), いずれの CNV の総和も進行胃癌で有意に長かった ( $p < 0.001$ ).

### IV. 結 語

1. 早期胃癌と進行胃癌では CNV 異常のパターンが異なることが明らかとなった.
2. 早期胃癌から進行胃癌への進行には CNV 異常の増加が関連してい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 小原 航 (泌尿器科学講座)

副査 教授 松本 主之 (内科学講座消化器内科消化管分野)

副査 准教授 石田 和之 (病理診断学講座)

Copy number variation (CNV) は全染色体レベルの DNA コピー数異常であり, chromosomal instability (CIN) を代表するゲノム異常の一つと考えられている. 早期胃癌と進行胃癌の分子異常の差を理解することは, 胃癌の診断, 治療の観点からも重要である. 本研究論文は, CNV 解析を用いて早期癌及び進行癌における染色体レベルの異常を検出し, 癌の進行に関連する染色体変化を明らかにした論文である. 内視鏡的切除された早期胃癌 45 例, 外科的切除された進行胃癌 20 例を対象とし各々 DNA を抽出し, SNP array を用いた CNV 解析を行った. 染色体コピー数増加 (gain), 染色体コピー数減少 (Loss of heterozygosity, LOH) 及び染色体増加を伴わない減少領域 (copy neutral LOH, CN-LOH) を検出し, 各染色体領域における両者の CNV 頻度を算出し, 各異常領域の DNA サイズの総和を比較検討した. 早期胃癌と進行胃癌では CNV 異常のパターンが異なることが明らかとなった. また, 早期胃癌から進行胃癌への進行には CNV 異常の増加が関連していることが示唆された. この解析により胃癌のバイオマーカーとして可能性のある 6 遺伝子が候補として考えられた.

本論文は早期癌と進行癌の CNV 解析により, 進行癌において CNV 異常の増加を多く認め, 候補遺伝子を推定した初めての研究であり, 今後の展開が期待できる, 学位に値する論文である.

### 試験・試問の結果の要旨

CNV 異常の定義, 進行に関与する候補遺伝子と予後との関連, 早期癌の中で進行癌の DNA 変化に類似する症例の病理学的特徴等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える.

### 参考論文

- 1) 大腸 LST の肉眼亜型分類に基づいた臨床病理学のおよび分子病理学的検討 胃と腸 49 巻 12 号 (2014)
- 2) 発生部位に基づいた大腸鋸歯状病変の臨床病理学のおよび分子病理学的検討 胃と腸 50 巻 13 号 (2015)