

## 論文内容の要旨

Molecular alterations in colorectal adenomas and intramucosal adenocarcinomas defined by high-density single-nucleotide polymorphism arrays

(高密度 SNP-array を用いて解析した大腸腺腫と粘膜内癌における分子学的変化)  
(永塚真, 菅井有, 幅野渉, 上杉憲幸, 高橋弥生, 川崎啓祐, 山本英一郎, 鈴木拓, 松本主之)

(Journal of gastroenterology 52 巻, 11 号 平成 29 年 11 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。大腸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 microsatellite instability (MIN) に大別される。Copy number alteration (CNA) 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。大腸癌の浸潤の際に多くの CNA が見られる事は明らかだが, その前癌病変である大腸腺腫, 粘膜内癌における CNA の役割は明らかではない。大腸腺腫と粘膜内癌の分子異常の差を理解することは, 大腸癌の診断, 治療の観点からも重要である。今回我々は CNA 解析を用いて大腸腺腫及び粘膜内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大腸腺腫 55 例 (low grade 35 例, high grade 20 例), 粘膜内癌 20 例を対象とした。全ての検体において新鮮切除標本より癌部分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より DNA を抽出した。DNA を利用して, SNP array を用いた CNA 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, CNLOH) を検出した。各染色体領域における両者の CNA 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. 大腸腺腫におけるゲノム異常

Low grade adenoma における CNA 領域の平均個数は 28 箇所 (gain 13 箇所, LOH 3 箇所及び CN-LOH は 12 箇所) であった。高頻度の CNA 異常領域 (30%以上) は認めなかった。

High grade adenoma における CNA 領域の平均個数は 112 箇所 (gain 64 箇所, LOH 11 箇所

及びCN-LOHは38箇所)であった。高頻度のCNA異常領域(30%以上)はGainでは7q11.22-23(35.0%), 7q11.1-11.21(30.0%), 7q21.11-36.3(30.0%), 9p13.1(30.0%)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。CNLOHの頻度は5q15-35.3(40.0%), 5q14.3(35.0%)の頻度が高かった。

## 2. 粘膜内癌におけるゲノム異常

CNA領域の平均個数は167箇所(gain 126箇所, LOH 11箇所及びCN-LOH, 31箇所)であった。高頻度のCNA異常領域(30%以上)はGainでは13q12.13-12.2, 13q13.2-13.3(60.0%), 13q31.1-32.1, 13q33.2-2, 13q21.1-22.1, 13q14.11-13, 13q14.3, 13q12.11-12.12, 13q12.3-13.1(56.7%), 13q11, 13q14.2, 13q22.2-33.1(53.3%), 13q32.2-32.3(50.0%), 13q34(46.7%), 7q11.2, 20q13.33(43.3%), 7p12.3-22.3, 7q11.22-36.3, 8p11.21-11.22, 20q11.21-13.32(40.0%), 7p11.2-12.2, 8q21.11-24.13, 20q12-13.13(36.7%), 18p11.31-32(33.3%), 17p12, 18q12.1-12.3(30.0%)での頻度が高かった。LOHでは30%以上の領域は認められなかった。30%以上の高頻度のCNLOHは5q14.1(33.3%), 5q14.2-35.3(30.0%)に認められた。

## 3. 大腸腺腫と粘膜内癌の差異

low grade adenoma と high grade adenoma 間で各遺伝子座のCNA頻度に有意差は認めなかったが, high grade adenoma と粘膜内癌間でCNA頻度に有意差( $p < 0.01$ )が認められた異常は13q12.13-2, 13q13.2-3, 13q12.11-13.1, 13q14.11-14.13, 13q11, 13q14.2, 13q32.2, 13q21.2, 13q22.1, 13q32.1, 13q33.2-3, 13q22.2-33.1, 13q14.3-21.1, 13q21.31-33, 13q31.1-3のGainでありLOHやCNLOHでは有意差は認めなかった。

## 4. 大腸腺腫と粘膜内癌の染色体異常領域サイズの差異

全CNA領域の総和はlow grade adenomaと比較してhigh grade adenomaと粘膜内癌で有意に長かった( $p < 0.001$ )。high grade adenomaと粘膜内癌の間では染色体異常領域のサイズで有意差は認めなかった。

## IV. 結 語

CNAは大腸腫瘍の初期のプログレッションについても重要な役割を担っていることが示唆された。

## 論文審査結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 井上 義博 (救急・災害・総合医学講座:救急医学分野)

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 特任准教授 石田 和之 (病理診断学講座)

日本人の消化器系悪性腫瘍で頻度の高い大腸癌の発生過程には、2つの分子発癌機構が知られている。その1つが染色体レベルの異常を特徴とする chromosomal instability (CIN) であり、Copy number alteration (CNA) は全染色体レベルの DNA コピー数異常を示し、CIN を代表するゲノム異常の1つである。CNA は進行癌では明らかであるが、筆者は大腸腺腫や粘膜内癌で、腺管分離法によって得られた腫瘍腺管から抽出した DNA に対する SNP array を用いた CNA 解析を行うことにより、癌の進行過程による染色体変化を検討した。その結果、low grade adenoma (LGA), high grade adenoma (HGA), intramucosal adenocarcinoma (IMA) の3群間で、CNA 領域の総和では LGA に比して HGA と IMA が有意に長く、CNA 頻度では HGA に比して IMA で有意に高頻度の Gain が複数認められた。これは CNA が大腸癌の初期進行過程に重要な役割を担っていることを示唆する知見であり、学位に値すると考えられる。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。

## 試験・試問の結果の要旨

DNA の抽出方法、SNP array を用いた CNA 解析法、その結果の解析や今後の応用等について試問し、的確な解答を得た。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) A case of intravascular papillary endothelial hyperplasia of the stomach leading to a novel hypothesis for the pathogenesis (永塚真, 他 11 名と共著) Histopathology, 2017 年掲載予定
- 2) 発生部位に基づいた大腸鋸歯状病変の臨床病理学および分子病理学的検討 (永塚真 他 12 名と共著) 胃と腸, 50 巻, 13 号 (2015) : p1709-1722.
- 1) 大腸 LST の肉眼亜型分類に基づいた臨床病理学および分子病理学的検討 (上杉憲幸 他 10 名と共著) 胃と腸, 49 巻, 12 号 (2014) : p1732-1747.