

論文内容の要旨

Molecular landscape of copy number alterations and genetic mutations in high-grade serous adenocarcinoma of the ovary

(卵巢高異型度漿液性腺癌における高密度 SNP array を用いた分子解析)

(深川智之, 菅井有, 幅野渉, 永塚真, 上杉憲幸, 刑部光正, 菅安寿子, 永沢崇幸, 板持
広明, 杉山徹)

(岩手医学雑誌 70 巻 4 号, 平成 30 年 10 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。消化器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 alteration (CAN) 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。

漿液性腺癌は卵巢癌の中で最も頻度が高い組織型で, 生物学的悪性度が高く, 予後不良な癌とされている。p53 変異が多く, MSI や BRAF 変異はまれだと言われている。類内膜癌と比較して, 漿液性腺癌は染色体レベルでの異常が多いことが予想されるが, 確立された分子発癌経路は明らかにされておらず, 体系化された分子病型も確立されていない。

卵巢癌における遺伝子異常については, gain では 8q, 3q, 20q, 1q, loss は 4q, 16q, 17q, 22q が多いとされている。染色体異常の部位によっては予後不良因子となりうるという報告もされているが, 一定の見解は得られていないのが現状である。また, CNLOH についてはほとんど報告がない。

今回我々は CNA 解析を用いて卵巢漿液性腺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

岩手医科大学産婦人科学講座で外科的切除された卵巢高異型度漿液性腺癌 30 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. 卵巣漿液性腺癌におけるゲノム異常

卵巣漿液性腺癌 30 症例において、ゲノム全体での CNA 異常の総数の平均は 450 個で、gain では平均 210 個（範囲：63-424）、LOH では 118 個（範囲：0-254）、CN-LOH では 122 個（範囲：12-451）であった。

Gain では 60%以上の症例で異常が検出された領域は 8q23.3, 8q24.22, 8q24.13, 8q23.2, 3q26.2, 8q24.21, 3q26.31-26.32, 3q26.1, 8q24.3, 8q24.2, 8q24.11-24.12, 3q25.33, 8q23.1, 8q22.1, 1q43, 3q26.33-27.2, 3q25.2-25.32, 8q21.11, 20q13.33 であった。

LOH では 40%以上の症例で異常が検出された領域は 5q13.1-13.2, 4q22.3-24, 5q12.3, 4q22.2, 5q13, 5q12.1-12.2, 8p21.3-22, 11p15.4, 16q22.2-23.1, 22q13.31 であった。

CN-LOH では 17q25.1-25.2, 17q25.3, 17q24.3, 17q24.2, 17q21.33-22, 17q23.1-24.1, 17q21.32, 17q21.31, 17q12-21.2, 17p13.1-13.3, 17q11.2, 17p12 であった。

2. 卵巣漿液性腺癌における遺伝子変異の解析

TP53 変異については 20 症例（66.7%）で陽性であった。PIK3CA 変異は 1 症例（3.3%）、KRAS 変異は 2 症例（6.7%）、BRAF 変異は認められなかった。

3. 卵巣漿液性腺癌に置ける p53 と CNA の関連

TP53 変異症例 20 例において、TP53 遺伝子の領域である 17p13.1 の CNA については、10 例（50.0%）が LOH, 9 例（45%）が CN-LOH, 1 例（5%）が gain であった。

4. 卵巣漿液性腺癌でのリンパ節転移の有無についての検討

当研究症例 30 症例のうち、リンパ節転移についてリンパ節郭清が行われた症例は 19 症例であった。（そのうち 7 例がリンパ節転移陽性であった。）19 症例で CNA の頻度で検討を行った。リンパ節転移の有無において、CNA 頻度の有意差が認められた領域は Gain では 6q16.3, 6q16.2, 6q22.31, 8q11.21, 16p13.2, CN-LOH では 9q22.33, 9q22.1, 9q21.33, 9q22.32, 9q22.31, 9q22.2, LOH では有意差のある領域は認められなかった。

5. p53 変異の有無と染色体異常領域サイズの差異

p53 陽性症例では Gain において、全 CNA 領域の総和が p53 陰性症例より優位に大きかった。

6. リンパ節転移の有無と染色体異常領域サイズの差異

リンパ節転移陽性症例では CN-LOH において、全 CNA 領域の総和がリンパ節転移陰性症例より優位に大きかった。

IV. 結 語

HGSC では多くの CNA が認められた。HGSC の発生及び、進展・転移には CNA が密接の関連している事が示唆された。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 松本 主之 (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)
副査 教授 板持 広明 (婦人科学講座)

癌の発生、進展、転移過程において、染色体異常 (chromosomal instability[CIN]) は重要な役割を有している。近年、CIN の指標として、全染色体の DNA コピー数の異常を検出する copy number alteration (CNA) 解析が注目されている。本研究の目的は、卵巣高度異型漿液性腺癌 (HGSA) の CNA 解析を行い、臨床病理学的特徴と対比することにある。対象は外科的切除された HGSA30 例であり、腺管分離法を用いて単離した腫瘍腺管から DNA を抽出し、SNP array 法で CNA 解析した。CNA は染色体コピー数増加 (gain)、コピー数減少 (LOH)、あるいはコピー数の変化を伴わない遺伝子減少領域 (CN-LOH) に分類し、各異常領域の DNA サイズ総和も検討した。その結果、HGSA の CIN として平均 450 個の CNA 異常領域がみられ、CNA のタイプ別平均数は gain210 個、LOH118 個、CN-LOH122 個であった。リンパ節転移の有無別に比較したところ、転移陽性例で gain の頻度が有意に高い領域が 5 領域、CN-LOH の頻度が有意に高い領域が 6 領域存在し、CN-LOH 領域のサイズの総和が有意に高かった。また、p53 変異陽性例で陰性例よりも CNA 領域のサイズの総和が有意に高値を示した。

本論文は、卵巣 HGSA における CNA の実態を明らかにし、転移予測における CNA 解析の意義、および p53 変異と CNA の関係を示した貴重な報告と考えられる。学位に値する論文である。

試験・試問の結果の要旨

HGSA の臨床病理学的特徴、CNA の定義と評価法、データ解析における統計学的手法、結果の解釈について試問を行い、適切な回答を得た。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) Molecular analysis of isolated tumor glands from endometrial endometrioid adenocarcinomas (類子宮粘膜腺癌から腺管分離した癌腺管の分子生物学的解析) (菅 安寿子, 他 7 名と共著)
Pathology International, 65 巻, 2 号(2015): p240-248.
- 2) Molecular subtypes of colorectal cancers determined by PCR-based analysis (PCR 法による大腸癌の分子生物学的サブタイプ) (菅井 有, 他 8 名と共著)
Cancer Science (E-pub)