

論文の内容の要旨

論文題目 大腸鋸歯状腺腫の発生における APC 遺伝子の
関与について

指導教官 藤田 敏郎教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 9 年 4 月入学

医学博士課程

内科学専攻

氏名 出張 玲子

要旨本文

組織学的に過形成性ポリープに類似する構造を示すが、これとは異なる細胞形態を示す病変、すなわち上皮が鋸歯状腺管構造を形成しつつ増殖するがむしろ腺腫に近い細胞異型を示す病変があることはかなり以前より知られていた。1990 年に Longacre と Fenoglio-Preiser が、上記病変で同一病変内にモザイク状に過形成性ポリープと通常型腺腫とが混在するものとは区別されるものを鋸歯状腺腫 (serrated adenoma) と名づけ大腸腺腫の一つの組織亜型としてから、鋸歯状腺腫はほぼ確立された概念となって今日に至っている。このように独立した疾患単位としての鋸歯状腺腫の存在が認められるようになるにつれ、

鋸齒状腺腫に腺癌を伴っている例が報告されるようになり、鋸齒状腺腫の腺癌合併率は 10-15%とされている。通常、大腸癌の発生は adenoma - carcinoma sequence による発癌、すなわち suppressor pathway と DNA 修復機構の異常を基盤とした mutator pathway による発癌に大別されるが、鋸齒状腺腫の場合にも adenoma - carcinoma sequence が当てはまるであろうかという疑問が出てき、serrated adenoma - carcinoma sequence の存在を強調する研究者も少なくない。鋸齒状腺腫の遺伝子学的異常については p53、K-ras 等の面より幾つかの研究がなされているものの、いずれについても一定した見解は得られておらず、adenoma - carcinoma sequence において最初あるいはごく初期に標的となる極めて重要な gate keeper 的遺伝子である APC 遺伝子に関しても、その遺伝子変異を鋸齒状腺腫で調べたものがこれまでに 2 報告されているが、その成績は全く一致していない。また、鋸齒状腺腫における APC 遺伝子のメチル化についてまで調べた報告は見当たらない。そこで私は、消化管病理医の多くが鋸齒状腺腫の組織形態的特徴的所見として共通にあげている、管腔が鋸齒状を呈し、好酸性細胞質を有する円柱上皮と杯細胞から構成される腺管から成るものを典型的な鋸齒状腺腫として、鋸齒状腺腫単独例 26 症例 28 病変と腺癌合併鋸齒状腺腫例 4 症例 4 病変、また対照として管状腺腫単独例 11 症例 12 病変および腺癌合併管状腺腫 10 症例 10 病変を材料として抽出し、polymerase chain reaction - single strand conformation polymorphism (PCR - SSCP) 解析およびシーケンスを用いて APC 遺伝子の mutation cluster region (MCR)を含む codon 1274 - 1523 について調べたほか、APC 遺伝子のプロモーター領域のメチル化の有無を methylation - specific PCR (MSP) により調べた。その結果、鋸齒状腺腫単独例では、PCR で増幅されなかった 2 例を除いた 26 例中 1 例 (3.8%) に PCR-SSCP 解析で異常バンドが検出され、その部の DNA のシーケンスの結果、コドン 1464-1465 に欠失を認めた (表 1)。鋸齒状腺腫に腺癌が合併していた 4 例では、腺腫部にも腺癌部にも異常バンドは検出されなかった。対照とした管状腺腫では、これまでの報告例とほぼ同様に腺腫単独例 12 例中 8 例 (66.7%) に異常バンドが検出され、表 1 に示すようなシーケンスの結果が得られた。管状腺腫に腺癌を伴っていた 10 例では、腺腫部で 6 例 (60.0%)、腺癌部で PCR により増幅されなかった 2 例を除いた 8 例中 4 例 (50.0%) に異常バンドが認められ、シーケンスの結果は表 1 のようになった。MSP 解析で鋸齒状腺腫について APC

遺伝子のプロモーター領域のメチル化の有無を調べた結果については、メチル化が鋸歯状腺腫単独例では 28 例中 4 例 (14.3%) に認められた。腺癌合併例の 4 例では、鋸歯状腺腫部で 1 例にメチル化が認められたが、腺癌部では認められなかった。同様のプライマーを用いて Esteller らは管状腺腫 48 例中 9 例 (18%) にメチル化を認めているので、鋸歯状腺腫と管状腺腫との間で APC 遺伝子のプロモーター領域のメチル化に関しては有意の差はなさそうである。このように鋸歯状腺腫の APC 遺伝子の MCR における変異率が通常型の管状腺腫のそれよりも有意 ($p < 0.05$) に低いことから、この領域において APC 遺伝子の構造的異常は鋸歯状腺腫では管状腺腫に比べてはるかに起こりにくいことが推測される。また、遺伝子変異のあった病変とメチル化のあった病変に重複はなく、これら変異もしくはメチル化といった APC 遺伝子の異常を合わせても全体の 19.2%にしかならず、管状腺腫の APC 遺伝子変異のみの頻度 (66.7%) にもはるかに及ばない。腺癌合併鋸歯状腺腫で APC 遺伝子のメチル化の見られたものは 1 例しかなかったが、その癌部にはメチル化が認められなかったことは、APC 遺伝子の不活性化が遅発性であるということも意味しない。以上のことより、先ず鋸歯状腺腫の多くは、その腫瘍発生過程に通常の管状腺腫に関わっているような様式で APC 遺伝子が関与している可能性は少ないと考えられる。それが鋸歯状腺腫の場合、APC 遺伝子の変異が一般の大腸癌の変異が集中する MCR、つまりエクソン 15 の 5' 側以外の所に起こりやすいのか、あるいは通常の大腸癌における adenoma - carcinoma sequence の遺伝子学的経路とは異なる経路で発生してくるのかは今後の課題である。また今回 APC 遺伝子変異を有する鋸歯状腺腫が 1 病変のみ認められたが、このような APC 遺伝子変異を有する鋸歯状腺腫の生物学的性格が他の鋸歯状腺腫とは異なるのか、通常の管状腺腫と似ている点もあるのかについても、今後さらに症例を積み重ねて検討したい。

表1. 鋸齒状腺腫及び管状腺腫におけるAPC遺伝子エクソン15の変異の詳細

組織型	コドン	変異			
		種類	内容		
I. 鋸齒状腺腫単独例	1	1464-1465	DEL	GAGAGT→GT	
II. 管状腺腫	A. 腺腫単独例				
	1	1464-1465	DEL	GAGAGT→GT	
	2	1464-1465	DEL	GAGAGT→GAGT	
	3	1464-1465	DEL	GAGAGT→GAGT	
	4	1307-1308	PM	ATAAAA→ATAGAA	
	5	1464-1465	DEL	GAGAGT→GT	
	6	1464-1465	DEL	GAGAGT→GT	
	7	1287	DEL	ATA→AA	
	8	1319-1323	DEL	CCTGTGAGCGAAGTT→CCTT	
	B. 腺癌合併例				
	1	腺腫部位 腺癌部位	1464-1465 NA	DEL DEL	GAGAGT→GT GAGAGT→GT
	2	腺腫部位 腺癌部位	1290-1291 1290-1291 1298 1299	INS INS INS PM	AATCAG→AATCAGACGACAG AATCAG→AATCAGACGACAG TCT→TCTGCTAATACCCT GCT→GCA
	3	腺腫部位 腺癌部位	1464-1465 1464-1465	DEL DEL	GAGAGT→GAGT GAGAGT→GAGT
	4	腺腫部位 腺癌部位	1302 1302	INS INS	CTG→CTTG CTG→CTTG
	5	腺腫部位 腺癌部位	1347-1348 1347-1348	DEL DEL	GCCAGG→GCAGG GCCAGG→GCAGG
	6	腺腫部位 腺癌部位	1485-1486 NA	DEL DEL	GCTGAT→GCTAT GCTGAT→GCTAT

NA: not amplified, DEL: deletion, INS: insertion, PM: point mutation