

審査の結果の要旨

氏名 金沢孝満

大腸低分化腺癌、粘液癌は、頻度は低い(5%程度)、浸潤傾向が強く、転移をきたしやすいなど生物学的悪性度が高いことが知られている。したがって、低分化腺癌、粘液癌を解析し、悪性度に関与する因子を明らかにすれば、今後、それらの因子を治療のターゲットにできる可能性があると考えられる。これまで大腸低分化腺癌、粘液癌についての報告は少なく、報告されている検討においても、少ない症例数での臨床病理学的検討が主であり、遺伝子変化についての報告は少ない。本研究では、大腸低分化腺癌、粘液癌の遺伝子異常を明らかにするために、genetic な変化と epigenetic な変化を検討した。まず genetic な変化として、LOH の解析を行ない、次に epigenetic な変化として、E-cadherin のプロモーター領域のメチル化について検討した。さらに、大腸癌の遺伝子変化の中心で、E-cadherin と complex を形成する β -catenin についてその発現を検討した。下記に要点を示す。

I Genetic な変化

大腸癌で LOH の頻度の高い 4 つの Loci のマーカーでの検討では、全体的に高分化腺癌と比較して低分化腺癌、粘液癌では LOH の比率は高く、D2S123 (*MSH2*)、D18S474 (*DCC*、*SMAD4*、2) の 2 つのマーカーで統計学的に有意差が得られた。さらに、genomic instability の指標とするため、*TP53*、*DCC*、*SMAD4*、2 など大腸癌と関連の深い遺伝子の存在する 17 番、18 番染色体に分布する 27 のマイクロサテライトマーカーを利用し LOH を検討した結果、その比率である LOH-ratio の比較では、低分化腺癌、粘液癌で有意に LOH の率が高く、分化度が低くなるほど LOH の率が高くなることが示された。

II Epigenetic な変化

- ① E-cadherin のプロモーター領域のメチル化を methylation specific PCR (MSP) にて解析したが、54.5%で E-cadherin プロモーター領域のメチル化を認め、免疫染色における E-cadherin の異常発現と有意に相関した。一方、E-cadherin 遺伝子 *CDHI* の近傍の 3 マーカーを用いて LOH を解析した結果、LOH の有無と E-cadherin の異常発現については有意な相関は認められず、大腸低分化腺癌、粘液癌において E-cadherin の機能消

失はメチル化の寄与が大きいことが示唆された。

- ② E-cadherin と β -catenin の免疫染色では、両者の異常発現に有意な相関を認め、in vitro の実験で報告されていた E-cadherin の異常が β -catenin のシグナル伝達を促進するという結果を支持するものだった。これまでの高分化腺癌での報告と比較すると、E-cadherin は低分化腺癌、粘液癌で異常発現が多く (78.6%)、 β -catenin は低分化腺癌、粘液癌で異常発現を示すものがやや少ない結果となり (62.2%)、高分化腺癌と異なり低分化腺癌、粘液癌の特徴と考えられた。

以上、本論文は 17 番、18 番染色体に分布する 27 のマーカーによる LOH-ratio の解析から、大腸低分化腺癌、粘液癌では発癌において genomic instability がより強く関与していることを示し、また、低分化腺癌、粘液癌では、高分化腺癌に比べて E-cadherin の異常発現の頻度が高く、この E-cadherin の機能低下は LOH ではなく、メチル化による寄与が大きいことが示された。本研究は、これまで報告の少なかった大腸低分化腺癌、粘液癌における遺伝子異常を解析し、今後大腸癌の悪性化因子のさらなる解明に重要な貢献をなすと考えられ学位の授与に値するものと考えられる。