

論文内容の要旨

論文題目 肺高悪性度神経内分泌腫瘍における染色体変異の解析

指導教員 橋都浩平教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 13 年 4 月入学

医学博士課程

生殖発達加齢医学専攻

氏名 田中由紀子

肺小細胞癌(SCLC, small cell lung carcinoma)は、進行が早く予後不良な癌である。1999 年 WHO の肺癌組織分類において神経内分泌腫瘍という枠組みに SCLC とともに大細胞神経内分泌癌(LCNEC, large cell neuroendocrine carcinoma)が新たに分類された。SCLC と LCNEC は形態学的には異なるものであるが、喫煙によるリスク、TP53(tumor protein p53)、Rb1(retinoblastoma1)などの異常や有糸分裂像の数といった生物学的特徴は同じであるということが知られている。今回これらを染色体変異という観点から比較することでその相違を見出すことを試みた。

今回の研究では SCLC 24 例、LCNEC 10 例の計 34 例の臨床検体について、その癌部とペアとなる非癌部から抽出した DNA を解析した。ゲノム量の解析には Affymetrix 社の genotyping array (10K) を用い、シグナル強度を比較することでゲノムコピー数を推定した。

旧来の CGH 法では正常部と癌部の 2 検体の相対的蛍光強度により増減を見ているため総コピー数の相対的染色体増加を見るにとどまるのに対して、アレール別コピー数の変異を利用して絶対コピー数の推定を容易にできるため、これを用いて染色体の絶対的な増加などについて検討した。LOH を伴わずに染色体コピー数が 3 コピー以上である領域を染色体増加領域として検討した

ところ、SCLCでは1q、5p、6q、8qの4箇所が、LCNECでは1p、1q、2q、5p、6p、7p、7q、12p、12q、18p、18q、20p、20qの13箇所が挙げられた。5pおよび20pの二箇所では染色体増加を示す症例の割合はSCLCに比べLCNECで有意に高かった

染色体総コピー数の解析によって高度増幅(**high amplification**)については、従来より指摘されていたMYCファミリーの存在する領域を含む32箇所を検出した。このうち23箇所が今までに報告のない新規の高度増幅部位であった。

またホモ欠失としては、アレル別コピー数推定から10箇所が検出された。このうち6箇所は過去にSCLC及びLCNECで報告のなかった領域であった。総コピー数推定からは65箇所が候補となり、このうち62箇所は過去にSCLC及びLCNECで報告がなかった領域であった。ただしXbaI認識部位の多型による影響を排するなどさらなる基準が必要であると考えられた。

さらにアレル別染色体コピー数の推定からは、ヘテロ接合性の消失(LOH, loss of heterozygosity)が認められた症例の割合が多い領域は、SCLCで17p、3p(90%、18/20例)、13q(80%)、5q(65%)の4箇所、LCNECで3p、5q、16q、17p(89%、8/9例)、10q、13q、22q(78%)、14q、16p(67%)の9箇所であった。さらに両癌でLOHのある症例の占める割合に有意差があった領域は、14q、16p、16q、17q、19p、22qであった。LOH領域についてアレル別のコピー数を見ると、残るアレルのコピー数が必ずしも1コピーではなく2コピー以上であることが多いことが認められた。その結果14q、17pでは、肺SCLCに比べLCNECでUPPを示す症例の割合が有意に高かった。さらにLCNECではSCLCに比べてLOH及びUPPの症例が占める割合の多い部位が多い傾向があった。また17番染色体などにおいては、SCLCでは腕単位のLOHであるのに対し、LCNECでは短腕長腕にまたがる全染色体にわたるLOHを示す傾向がみられた。

高度増幅領域として今回初めて挙げられた領域には新たな癌遺伝子の存在の可能性が示唆された。またSCLCやLCNECでは報告がないものの、他の腫瘍では既知の癌遺伝子が高度増幅領域に存在しており、これらのSCLC及びLCNECにおける癌遺伝子としての役割が示唆された。

ホモ欠失領域として新たに検出された領域に癌抑制遺伝子の存在が示唆された。

17番染色体などにおいて、SCLCでは腕単位のLOHであるのに対し、LCNECでは短腕長腕にまたがる全染色体にわたるLOHを示す傾向がみられたことから、今後症例数を増やすことでこれらの差異によりこの二つの癌を識別できる可能性が示唆された。

高度増幅領域を持つ症例の数、染色体増加領域の数、LOH 及び UPP の起こる領域の数が多いことや、LOH が腕単位ではなく全染色体にわたる傾向が LCNEC であることから、SCLC に比べ LCNEC では染色体変異が起こりやすく、かつその変異はダイナミックであることが示唆された。

生物学的な特徴が似ているものの形態としては異なる SCLC と LCNEC は染色体変異という観点から比較することによって、大きな違いがあることが明らかとなった。このことは、この両者が癌の発生過程において異なるものであるということを示唆していると考えられる。さらにこれら染色体変異領域に含まれる遺伝子についての機能解析を行うことでより一層この二種の腫瘍の相違が明確になり、診断・治療において新たな進展を見出せる可能性がある。