



Chromosomal numerical abnormalities in early stage lung adenocarcinoma

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2013-08-27 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 佐野, 武尚 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/357

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 4 3 3 号	学位授与年月日	平成 1 9 年 1 月 1 9 日
氏 名	佐 野 武 尚		
論文題目	<p>Chromosomal numerical abnormalities in early stage lung adenocarcinoma (早期肺腺癌における染色体の数的異常)</p>		

博士(医学) 佐野 武 尚

論文題目

Chromosomal numerical abnormalities in early stage lung adenocarcinoma

(早期肺腺癌における染色体の数的異常)

論文の内容の要旨

〔はじめに〕

腫瘍形成の過程は遺伝子変異の蓄積であり、遺伝子の不安定性はその駆動力となっていることが言われている。最近の研究で、染色体の数的異常が腫瘍形成に関与している可能性が指摘されている。しかしながら、肺癌においても頻繁に認められるこの現象が、発癌過程の初期からおこっているのか、あるいは癌の進展に伴って副次的におこっているのか、さらにただ単なる遺伝子変異の結果に過ぎないのかは結論は得られていない。そこで本研究では、末梢肺の早期肺病変の発見が可能になっている現状をふまえ、前癌病変(異型腺腫様過形成)を含め早期肺腺癌において染色体の数的異常がどの程度存在するのかを明らかにし、肺癌発癌への関与を検討した。

〔材料ならびに方法〕

42人の患者から外科的に切除された46検体(異型腺腫様過形成16検体、肺腺癌30検体)を使用。異型腺腫様過形成は異型の程度からlow-gradeとhigh-gradeの2種類に分類した。肺腺癌30検体のうち腫瘍最大径が1 cm以下のものは13検体(その内細気管支肺胞上皮癌は7検体)含まれていた。他に、異型腺腫様過形成に囲まれて中心部に肺胞上皮癌が存在する1検体を加えた。全ての検体はホルマリン固定標本を使用した。それぞれの標本から病変部を直径2~5 mmで円柱状に抜き取り、12~25個で1ブロックの組織マイクロアレイを作成。5 μ mの切片をスライドに載せ18種類の α サテライトセントロメアプローブを用いてfluorescence *in situ* hybridizationを行った。通常の工程だと十分な信号強度が得られないことから、間欠的なマイクロウェーブ照射を加えながらhybridizationを行った。1細胞につき3個以上の信号を認めた時gainとし1個以下の信号の時はlossと判定した。

〔結果〕

low-gradeの異型腺腫様過形成において既にgainはみられ、high-gradeにおいては18種類の染色体全てにおいてgainを認めた。さらに1 cm以下の肺胞上皮癌では異型腺腫様過形成に比し1,2,4,6,8,16番とY染色体で有意にgainの頻度が増加した。また7,10,12,15,18番染色体においては腫瘍病期の進行に伴って増加した。gainの平均値は、正常組織からlow-gradeの異型腺腫様過形成、high-grade異型腺腫様過形成、肺胞上皮癌の準に増加していった。同様の現象が異型腺腫様過形成に囲まれて肺胞上皮癌が存在した検体でも認められた。しかしながら1 cm以下の肺胞上皮癌と1 cm以下の高分化型肺腺癌を比べるとその差は見られなかった。また、男性は女性より、非喫煙者は喫煙者より、組織型では未分化肺腺癌、中分化肺腺癌、高分化肺腺癌の順に染色体の数的異常が高頻度にみられた。

〔考察〕

染色体の数的異常は肺癌においてもよく知られている現象である。パラフィン切片を使用したfluores-

cence *in situ* hybridization法での検索は、従来のカリオタイプの研究とは異なり生体で起こった結果をそのまま反映しているといえる。前癌病変を含めた肺癌での広範囲な染色体異常の報告はなされていない。本研究では肺腺癌の前癌病変と考えられている異型腺腫様過形成において確かに染色体の数的異常が存在することを証明した。また早期の肺腫瘍形成において1, 2, 4, 6, 8, 16番とY染色体が異常をきたしやすいというnon-randomnessも示した。1, 8番染色体のnon-randomな異常は早期胃癌でも報告されている。異型腺腫様過形成から肺胞上皮癌までは異型度に応じて染色体の数的異常は増加していったが、腫瘍進展に関してはその傾向はみられなかった。つまり染色体の数的異常は主に発癌早期に関与している可能性が指摘できる。そして一旦癌化するとその性質は維持され安定している様である。前癌病変において染色体の数的異常を獲得していく意義は、腫瘍抑制遺伝子をもつ染色体をlossによって失うことや、癌遺伝子をもつ染色体をgainによって得ることで他の細胞より増殖するのに有利に働くことが考えられる。さらには、本研究での腫瘍発生において染色体の数的異常がみられたという事実は、発癌や進展の過程はある特定の遺伝子というより、数千の量の遺伝子の変化に依存するとの考えを裏付ける結果であった。

〔結論〕

染色体の数的異常は既に前癌病変や早期肺腺癌において広範囲に認められる現象であり、その現象が単なる発癌過程の副次的結果ではなく、駆動力になっている可能性がある。

論文審査の結果の要旨

遺伝子の変異が発癌に関係していることは疑いの余地が無いが、その中でも染色体の数的異常が発癌の大きな要因になっていることが注目されている。このような変異が、癌の発生の初期から起こっているのか、癌の進行に伴いその副次的な反応として起こっているのかという設問を立てると、これまでのところ、詳細な研究例は無く、実験的な検証がなされておらず、明確なことは分かっていない。そこで申請者は、ヒトの末梢肺癌早期の標本を集め、染色体の数的異常の実際を調べて、肺癌の発生と遺伝子の変異の関係を明らかにしようとした。

〔方法〕

浜松医大と近隣病院において、CTを含むX線検査によって早期癌と診断され、外科的に摘出されたヒト肺の標本からなる過去のライブラリーを使用した。ホルマリン固定のパラフィンブロックとして保存された標本において、fluorescence *in situ* hybridization (FISH)によって、変異の程度を調べた。標本は、異型腺腫様過形成のlow-grade (9検体)とhigh-grade (7検体)、肺腺癌の直径1 cm以上のもの (17検体)とそれ以下のもの (13検体)と合計46検体であった。多数の標本から病変部を2~5 mmの直径の円筒状に抜き取り、これらを5 μ mの厚みにスライスしてガラスに並べて貼り付け、組織マイクロアレイを作成した。標本にマイクロウェーブ処理をして、 α サテライト・セントロメアプローブを用いたFISHを行った。プローブに相補的なDNAコードを検出しているときに現れる蛍光輝点の数が3個以上あるときにgainとし、1個以下であればlossとした。

〔結果〕

異型腺腫様過形成のhigh-grade型では、18種の染色体全てにgainがあった。さらに、low-grade型におい

でもgainが認められた。肺胞上皮癌の1 cm以下でもgainが多く認められた。その程度は異型腺腫様過形成に比べて、7つの染色体で高い頻度であった。また、gain数は腫瘍病期の進行と共に増加する傾向があった。Gain数は腫瘍型の悪性度に従って増加した。1 cm未満の大きさで比較すると、肺胞上皮癌と高分化肺腺癌との間には差が無かった。染色体の数的異常の頻度が高かったのは、男女では男性、喫煙では非喫煙者、組織型では高分化肺腺癌であった。

これらのことから申請者は、肺腺癌の前癌病変と考えられている異型腺腫様過形成において、染色体の数的異常が存在することを証明したとし、また、数的異常が発癌の初期にのみ関係することを結論した。

審査委員会では、初期の前癌状態において染色体の数的異常が起こっていることを明らかにした点と、癌の進展の過程が特定の遺伝子だけではなく数千の遺伝子の変化に依存するという考え方を提出したことを高く評価した。

審査の過程において、審査委員会は次のような質問を行った。

- 1) マイクロウェーブ照射の不均一性について
- 2) 小さな癌病変を生前にどのように診断したか
- 3) High-gradeとlow-gradeの判定基準について
- 4) 異型腺腫様過形成から癌への移行性について
- 5) 染色体の数的異常と染色体の不安定性のどちらが発癌要因か
- 6) 染色体数の適正值を与える対照は何か
- 7) 染色体の構造異常について
- 8) 腫瘍の内部構造と染色体異常の関係は
- 9) この研究から患者へフィードバックされる情報について

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分理解しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者	主査	寺 川	進	
	副査	阪 原	晴 海	副査 鈴 木 一 也