



Microsatellite instability and K-ras mutations in gastric adenomas, in relation to associated gastric cancers

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-11-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 磯垣, 淳 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1077

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	医博第 224号	学位授与年月日	平成 9年 3月26日
氏 名	磯 垣 淳		
論文題目	Microsatellite instability and K-<i>ras</i> mutations in gastric adenomas, in relation to associated gastric cancers (胃腺種における microsatellite instability と K-<i>ras</i> 遺伝子異常、特に胃癌と合併した症例について)		

博士(医学) 磯 垣 淳

論文題目

Microsatellite instability and K-*ras* mutations in gastric adenomas, in relation to associated gastric cancers

(胃腺腫における microsatellite instability と K-*ras* 遺伝子異常、特に胃癌と合併した症例について)

論文内容の要旨

[はじめに]

胃腺腫は種々の程度の細胞、構造異型を伴った腺管構造をとる胃上皮の腫瘍性の病変であり、一般に良性疾患とされ、長期観察にても癌化する例は少ない。一方、胃癌により切除された標本の詳細な検索により、癌と独立して同一胃内に胃腺腫が存在することがしばしば経験され、胃腺腫が胃癌と同様の腫瘍発生背景を持つ可能性が予想されてきた。今日までに胃癌に関する遺伝子変化は多くの報告がなされているが、胃腺腫、また特に同時に見られる胃癌の遺伝子変化との関連について検索した報告はない。そこで、胃癌および胃腺腫を同じ胃内に独立した病変として発生した症例の両病変の遺伝子変化について検索しその共通する背景について考察した。

[方法]

1978年より1994年までの浜松医大及び藤枝市立病院の胃切除標本を検索し、胃腺腫を認めた症例、および内視鏡的切除術によって得られた胃腺腫症例につき以下の検討を加えた。診断基準は胃癌は日本胃癌研究会の規約に、胃腺腫は WHO の定義にそれぞれ準じた。さらに胃腺腫の組織異型度を長与らの胃異型上皮(dysplasia)の分類に従って、Grade 1、2 および 3 に亜分類した。

胃腺腫及び胃癌のパラフィン包埋組織ブロックより腫瘍部、正常部 DNA を抽出し、polymerase chain reaction (PCR) 反応の鋳型 DNA とした。遺伝子の不安定性を検索する目的にて 5 種類のマイクロサテライト領域のマーカー (D1S116, D2S136, D6S87, D10S197, TP53) を使用し胃腺腫及び併存する胃癌に対し検索した。マイクロサテライト不安定性 (microsatellite instability; MSI) は、各症例の正常組織と腫瘍組織との対比で、検索した 5 カ所中 1 カ所でも差異の見られるものを陽性とした。さらに K-*ras* 遺伝子の点突然変異をエクソン 1、コドン 12 および 13 について検索した。すなわちコドン 12 及び 13 共通のプライマーセットを用いた初回 PCR に続き、それぞれのコドンに特異的なミスマッチプライマーを用いた PCR を行い、制限酵素 (Mva-1, Bgl-1) による処理の後、正常組織より得られた DNA に同様の処理を行った産物とともにアクリルアミドゲルに泳動させ、その泳動距離の変化により判定した。コドン 12 に変異が見られた症例の 1 例にシーケンスを行い、点突然変異 (GGT to GTT; glycine to valine) を確認した。

[結果]

43 例 (男 34、女 9; 平均年齢 69.3 才) の患者より得られた胃腺腫 50 病変につき検討した。このうち 37 病変は胃腺腫と独立した胃癌を同時発生しており、胃腺腫のみは 13 病変であった。5 カ所のマイクロサテライトマーカーの検索にて胃腺腫 7 病変 (14%) に MSI を認めた。わずかに胃癌を併発している症例において MSI の頻度は高かった (6/37, 16.2% vs. 1/13, 7.6%) が有意差はなかった。胃癌において 29.7% (11/31) に MSI を認め、うち 4 病変において 3 カ所以上の部位で (severe replication error; severe

RER)陽性であった。胃腺腫の MSI は大部分 mild RER と呼ばれる 1 カ所のみ部位の変化であったが、これらは高頻度に、複数のマーカーに MSI を認める (severe RER) 癌に共存する傾向があった ($p=0.001$)。

胃腺腫の *K-ras* 遺伝子異常はコドン12を6病変 (12%) に、コドン13 (6%) を2病変にそれぞれ認めた。両方のコドンの変異を併存する病変はなかった。*K-ras* 遺伝子異常は組織異型度 ($p<0.05$) との関連を認めた。一方、癌においては *K-ras* 遺伝子異常はわずかに1病変に見られるのみであった。MSI と *K-ras* 遺伝子異常相互、及びこれらと他の臨床病理学的因子との関連はなかった。

[考察]

今回の検索にて胃腺腫の MSI は7病変に認められ、これまでの報告と同様に頻度は低く、また同時に検索した胃癌と比較すると低頻度であり、胃腺腫発生における MSI の関与は高くないと思われたが、一方にて高度に MSI を持つ胃癌においては併存する胃腺腫にも MSI の頻度が有意に高かった。一部の胃癌と胃腺腫においては腫瘍発生に伴う遺伝子変化に類似点の存在することを示唆している。

K-ras 遺伝子は様々な腫瘍にて異常を示す癌遺伝子である。大腸腺腫においては、*K-ras* 遺伝子は形態的特徴との関連が指摘されており、腺腫が大きいものに、また異型度の強いものに頻度が多いとされる。今回の検索にて大腸腺腫と同様に、異型度との関連が見られた。従って *K-ras* 遺伝子変化が胃腺腫の形態という点では、大腸腺腫の場合と同様な意義をもつ可能性を示す。一方 *K-ras* 遺伝子異常は胃癌、胃腺腫ともに低頻度であり、また同一胃内に共存する癌と腺腫に、この変化が重複する症例もないことから両者の発生における経路の連続性を示す指標にはならないと思われた。

胃における腺腫と癌の遺伝子変化については、大腸の腺腫-癌過程と対比した検索がなされ、一般にそれとは様相が異なるとする報告が多い。今回の結果はこの見解を支持するものである。しかし一部の腺腫と癌に共通する遺伝子変化があり、その指標は大腸癌発生における *K-ras* 遺伝子の点突然変異ではなくマイクロサテライト領域の読み誤り (slippage) を起こす機構の関与が想像された。

論文審査の結果の要旨

分子生物学の進歩により癌は遺伝子の異常の蓄積により発生する事が明らかになった。胃癌の場合の発癌の過程は大腸癌ほど明らかにされていない。

申請者は胃癌発癌の背景要因として腺腫に注目し胃切除標本を中心に癌、腺腫併存例について両病変の遺伝子変化について検索した。対象とした症例は1978年より1994年までの浜松医大及び藤枝市立病院の胃切除標本を検索し、胃腺腫を認めた症例および内視鏡的切除術によって得られた胃腺腫症例につきまず病理的検討を行った。

診断基準は胃癌については日本胃癌研究会の規約に、胃腺腫については WHO の定義に基づきまた組織異型度は長与らの胃異型上皮 (dysplasia) の分類に従って grade 1、2 および 3 に亜分類した。

パラフィン包埋組織ブロックより腫瘍部と正常部 DNA を抽出し Polymerase chain reaction (PCR) 反応の鋳型 DNA として以下の解析を行った。

異癌発生の genetic pathway として現在考えられている pathway は2つある。即ち低分化型腺癌と高分化型腺癌の pathway がありそれぞれ異なる遺伝子の関与が考えられている。

申請者は *K-ras* 遺伝子と Hereditary non polyposis colorectal cancer (HNPCC) の原因遺伝子であるミスマッチ修復遺伝子に異常が起こる際 mutator phenotype として検出出来る Replication Error (RER) に

ついて解析を行った。

RER 検出に用いた primer は D1S116、D2S136、D6S87、D10S197、TP53 の 5 つの領域の microsatellite maker であり、1ヶ所でも異常を認めたものを RER 陽性とした。

K-ras 遺伝子についてはコドン12、13における点突然変異を検出した。

胃腺腫50病変につき検討しこのうち37病変に胃癌を独立病変として認めている。腺腫内に胃癌が発生している症例はなかった。

この中腺腫7病変(14%)において RER (+) を認め胃癌においては11病変(29.7%)に RER (+) を認めた。

胃癌併存腺腫にやや RER の頻度が高かったが統計的有意差は得られなかった。(16.2% vs. 7.6%)

RER severe type の胃癌4例に於て併存腺腫にも severe RER が認められたのは興味がある所見でありこのような症例に関しては今後精密な家系調査が必要である。

K-ras 遺伝子の変異率は低くコドン12に6病変(12%)コドン13に2病変(6%)においてのみ変異を認めた。

しかし K-ras 遺伝子異常と組織異型度との間には関連が認められた。

胃癌に併存する胃腺腫に関し両病変の遺伝子変化について同時に検索しその共通する背景について考察した報告はないのでその点を評価した。

以上のような論文要旨に対して以下の質疑を行った。

- 1) HNPCC の原因遺伝子と染色体上の位置
- 2) Microsatellite Instability について
- 3) Severe RER と mild RER の意義
- 4) 胃癌・大腸癌発癌の genetic pathway の類似点と相違点
- 5) HNPCC の臨床像の特徴
- 6) Amsterdam Criteria について
- 7) 多重癌について

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 教授 馬 場 正 三

副査 教授 金 子 榮 蔵 副査 助教授 宮 本 愛