



Loss of heterozygosity on chromosomes 9q and 16p in atypical adenomatous hyperplasia conomitant with adenocarcinoma or the lung

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-31 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 高持, 一矢 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1663

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 386号	学位授与年月日	平成16年 3月 9日
氏 名	高 持 一 矢		
論文題目	Loss of heterozygosity on chromosomes 9q and 16p in atypical adenomatous hyperplasia concomitant with adenocarcinoma of the lung (肺腺癌を伴った肺異型腺腫様過形成における常染色体9番長腕および16番短腕のヘテロ接合性の欠失に関する検討)		

論文題目

Loss of heterozygosity on chromosomes 9q and 16p in atypical adenomatous hyperplasia concomitant with adenocarcinoma of the lung

(肺腺癌を伴った肺異型腺腫様過形成における常染色体 9 番長腕および 16 番短腕のヘテロ接合性の欠失に関する検討)

論文の内容の要旨

[はじめに]

発癌過程の解明には、前癌病変の生物学的特徴を研究することが不可欠である。肺腺癌の発生過程についてはほとんど解明されていないが、近年、病理組織学的、分子生物学的研究によって、肺異型腺腫様過形成 (Atypical adenomatous hyperplasia, AAH) が肺腺癌の前癌病変と考えられるようになった。

結節性硬化症は、全身の諸臓器に過誤腫性病変が認められる常染色体優性遺伝の疾患である。原因遺伝子として常染色体 9 番長腕 (9q) に *TSC1* 遺伝子、16 番短腕 (16p) に *TSC2* 遺伝子が同定され、いずれかの異常が結節性硬化症の発症に関与することが明らかにされている。我々は、結節性硬化症の肺病変の一つである Multifocal micronodular hyperplasia (MMPH) が、形態学的に AAH と非常に類似していることに注目し、*TSC1* もしくは *TSC2* 遺伝子の異常が肺腺癌の発症に関与しているのではないかと考えた。そして、肺腺癌において *TSC1* および *TSC2* 遺伝子領域のヘテロ接合性の欠失 (LOH) が認められること、さらに *TSC1* 遺伝子領域の LOH は、AAH を伴った肺腺癌において高頻度に認められることを報告した。本研究では肺腺癌の前癌病変である AAH において既に *TSC1* および *TSC2* 遺伝子の LOH が認められるか否かを検討した。

[材料と方法]

材料: 11 人の AAH を伴った肺腺癌切除症例から得られた肺腺癌 17 病変、AAH 18 病変。

方法:

1. DNA 抽出

切除標本をメタノール固定して作成したパラフィン包埋切片を、5 μ m の厚さで切り出す。次に倒立顕微鏡下に microdissection を行って、病変部から腫瘍細胞を選択的に採取したのち、WB kit で DNA を抽出した。

2. Polymerase chain reaction (PCR) に基づく LOH 解析

9q (*TSC1* 遺伝子領域を含む) 上の 4 カ所および 16p (*TSC2* 遺伝子領域を含む) 上の 4 カ所のマイクロサテライト領域について、PCR 法で DNA 断片を増幅した。各患者の正常リンパ節から抽出した DNA を用いたコントロールとして、腫瘍における LOH の有無を ALFred sequencer にて解析した。

3. 統計学的解析

Fisher の直接法で病理組織学的諸因子と LOH の有無との相関を検討した。

[結果]

1. AAH の 39% (7/18)、肺腺癌の 53% (9/17) に 9q の LOH が認められた。

2. AAH の 28%(5/18)、肺腺癌の 41%(7/17)に *TSC1* 遺伝子領域の LOH が認められた。
3. AAH の 22%(4/18)、肺腺癌の 35%(6/17)に 16p の LOH が認められた。
4. AAH の 6%(1/18)、肺腺癌の 29%(5/17)に *TSC2* 遺伝子領域の LOH が認められた。

[考察]

AAH は他の組織型の肺癌よりも高頻度に腺癌に随伴し、多発 AAH は多発腺癌症例に高頻度に認められることが知られている。本研究の症例の集積期間に切除された AAH を伴った肺癌のうち、85%(22/26)は腺癌であり、多発肺腺癌症例はすべて多発 AAH を伴っていた。これらの知見は AAH と腺癌が共通の発生に関わる因子を有する可能性を示唆する。

これまでに AAH において *K-ras* や *p53* 遺伝子の変異、3p や 9p の欠失など腺癌と共通するいくつかの遺伝子の異常が報告されている。我々が今回検討した 9q および 16p の欠失の頻度は上述した遺伝子の異常と同程度に高頻度に認められた。特に、*TSC1* 遺伝子領域を含んだ 9q の LOH の頻度は高く、9q に肺腺癌の発癌に関与するがん抑制遺伝子が存在する可能性がある。

個々の症例について、AAH と腺癌の LOH の分布をみると、腺癌では AAH よりも広範囲のマイクロサテライト領域に LOH が認められた。このことは AAH から腺癌に至る過程で、段階的に *TSC1* 遺伝子を含む 9q 上の複数の遺伝子が関与している可能性を示唆する。

しかしながら、本研究の結果から *TSC1* 遺伝子が肺腺癌のがん抑制遺伝子であると結論するには、まだ大きな矛盾がある。実際、結節性硬化症の患者における MMPH の発生頻度は低く、腺癌の報告もほとんど認められない。いくつかの理由が考えられるが、*TSC1* 遺伝子そのものより、むしろその近傍の 9q 上のがん抑制遺伝子の異常が肺腺癌発生に関与している可能性が考えられる。今後は、*TSC1* 遺伝子領域の LOH が認められた症例において、もう一方のアリルに *TSC1* 遺伝子そのものの変異が起こっているか否かなどを検討していく必要がある。

[結論]

TSC1 遺伝子もしくはその近傍の 9q 上のがん抑制遺伝子の異常が肺腺癌発生の早期の段階に関与している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

肺腺癌の発癌メカニズムは重要な課題であるが、ほとんど解明されていないのが現状である。特に責任遺伝子の同定は重要で、それにより遺伝子診断はもとより分子標的治療への応用まで期待できる。申請者は肺腺癌発症の責任遺伝子の検索を目指し、特に肺腺癌の前癌病変と考えられている肺異型腺腫様過形成(atypical adenomatous hyperplasia, AAH)と結節性硬化症の肺病変の一つである multifocal micronodular hyperplasia (MMPH)が形態学的に酷似していることに注目し遺伝子レベルでの解析を行った。結節性硬化症はてんかん、知能低下を主徴とし、脳、皮膚、眼底、腎、肺などに腫瘍を形成することもある遺伝性疾患である。その原因遺伝子としては癌抑制遺伝子と考えられている *TSC1* および *TSC2* が同定されている。*TSC1* および *TSC2* 遺伝子産物は PI3 キナーゼ-Akt 経路の下流で mTOR を制御している癌抑制活性を持つ分子で、その活性は Akt によるリン酸化によって抑制的に調節されている。申請者は 11 人の AAH を伴った肺腺癌症例における *TSC1* および *TSC2* が存在する常染色体 9 番長腕および 16 番短腕のヘテロ接合性の欠失(LOH)の

有無を調べた。方法はメタノール固定したパラフィン切片の腫瘍部からマイクロダイセクションによって、DNA を抽出し、9q および 16p 周辺のマイクロサテライトマーカを用いて PCR し、ALFred sequencer で欠失の有無を調べた。申請者はこの一連の研究により以下の結果を得ている。

- 1) AAH を伴った肺癌のうち 85% は腺癌であり、多発性肺腺癌症例はすべて AAH を伴っており、AAH が肺腺癌と共通の発症因子を有することが示唆された。
- 2) *TSC1* 周辺領域: AAH で 39%、肺腺癌で 53% において 9q の LOH が検出された。また、AAH で 28%、肺腺癌で 41% において *TSC1* 遺伝子自身の LOH が検出された。
- 3) *TSC2* 周辺領域: AAH で 22%、肺腺癌で 35% において 16p の LOH が検出された。また、AAH で 6%、肺腺癌で 29% において *TSC2* 遺伝子自身の LOH が検出された。

以上申請者は、肺異型腺腫様過形成は肺腺癌の前癌病変と考えられることを確認した。さらに AAH に酷似した肺病変を示す結節性硬化症に注目し、その原因遺伝子 *TSC1,2* 周辺の LOH が AAH および腺癌において高頻度で起こっていることを明らかにした。これだけでは *TSC1* および *TSC2* が肺腺癌の責任遺伝子であることは断定できないが、本研究は肺腺癌の発生機構の解明に一石を投じるものであり、審査委員会ではこれらの研究成果を高く評価した。

以上の研究に対し、審査委員会では以下の質疑応答を行った。

- 1) *TSC1* および *TSC2* の機能について
- 2) *TSC1* および *TSC2* の発現組織・細胞について
- 3) LOH の判定方法について
- 4) AAH と腺癌を区別する方法は
- 5) インプリンティング（刷り込み）の有無について
- 6) 非欠失アレルにおける点突然変異の有無は
- 7) 組織染色法について
- 8) AAH で genomic instability は亢進しているか
- 9) AAH における他の癌関連遺伝子の異常は
- 10) 9q および 16p における *TSC* 以外の癌関連遺伝子は
- 11) AAH から腺癌への進行と欠失範囲の関係について

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委員全員一致で評価した。

論文審査担当者	主査	北 川 雅 敏	
	副査	梶 村 春 彦	副査 三 浦 克 敏