

Detection of kinase amplifications in gastric cancer archives using fluorescence in situ hybridization

メタデータ	言語: jpn 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2017-04-13 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 清瀬, 慎一郎 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/3155

博士(医学) 清瀬 慎一郎

論文題目

Detection of kinase amplifications in gastric cancer archives using fluorescence *in situ* hybridization

(蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション法による胃がんのキナーゼ増幅の検出)

論文の内容の要旨

[はじめに]

キナーゼは人のがんの薬理的介入に対する標的であり、その中で、HER2 遺伝子、EGFR 遺伝子などは最近の治療薬の分子標的として知られている。人のがんのキナーゼ遺伝子の変異や高発現やコピー数異常は特異的なキナーゼ阻害剤や抗体治療薬の重要な効果予測因子とされている。この研究では 100 種類のキナーゼ遺伝子を含む 100 種類の大腸菌人工染色体(BAC)を用いて、蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション法(FISH 法)により、60 例のがん組織のキナーゼ遺伝子の増幅を測定し、臨床病理学的評価との関係や、将来的にがん治療に貢献できる基礎的なデータ取りを実施した。

[材料ならびに方法]

この研究は浜松医科大学の倫理委員会の承認を得て行った(IRB23-91 ヒト固形腫瘍の遺伝環境表現型相関)。100 種類の BAC に蛍光標識を行い、60 例のがん組織(20 例の大腸、20 例の肺、20 例の胃)が載せてある組織アレイ上で FISH 法を実施した。その結果から 10 種類のキナーゼ遺伝子を含む 10 種類の BAC (EGFR, HER2, EPHB3, PIK3CA, MET, PTK7, ACK1, STK15, SRC, HCK) を選択して、365 例の胃がん組織アレイ上で FISH 法によってキナーゼ遺伝子増幅を測定した。FISH 法は組織切片を脱パラフィンして、熱処理(95°C、20 分間)、タンパク質分解酵素処理(37°C、10 分間)を実施して、検体とプローブの熱変性(85°C、5 分間)、一晚ハイブリダイゼーション(37°C)後、余分なプローブ溶液を洗浄して蛍光顕微鏡で観察した。測定は同一の細胞核に存在するキナーゼ DNA プローブ(キナーゼ遺伝子を含む BAC を蛍光標識)とセントロメア DNA プローブ(キナーゼ遺伝子が存在する染色体のセントロメア付近の蛍光標識プローブ)のコピー数を測定して、30~50 個の細胞核について計測して、合計を算出して、キナーゼ DNA プローブ/セントロメア DNA プローブのシグナル比で評価を行った。シグナル比が 3 以上の場合をキナーゼ遺伝子の増幅と判定した。セントロメア DNA プローブシグナルの増加に伴う、キナーゼ DNA プローブシグナルの増加をポリソミーと判定した。

[結果]

365 例の胃がん組織でのキナーゼ遺伝子増幅を、選択した 10 種類の BAC を用いて FISH 法により測定した結果、2.83% (PIK3CA) から 13.61% (HER2) で遺伝子増幅を確認した。MET を除いて、9 種類のキナーゼ遺伝子を含んでいる領域の増幅や広範囲のポリソミーがある症例は分化型の 4.7%, 8.4%, 8.3%, 9.6%, 7.8%, 21.6%, 10.2%, 10.5%, 12.2% (PIK3CA, EPHB3, ACK1, PTK7, EGFR, HER2, HCK, SRC, STK15) 、未分化型の 0.6%, 3.7%, 3.1%, 1.8%, 1.3%, 3.9%, 3.7%, 4.8%, 2.5% (PIK3CA, EPHB3, ACK1, PTK7, EGFR, HER2, HCK, SRC, STK15) で確認でき、分化型で多

いことを確認した。EGFR や SRC を含んでいる領域の増幅や広範囲のポリソミーがある症例は早期がんの 1.5%, 3.5% (EGFR, SRC)、進行がんの 7.1%, 10.7% (EGFR, SRC) で確認でき、進行がんで多いことを確認した。ACK1 や SRC を含んでいる領域の増幅や広範囲のポリソミーがある症例はリンパ節転移なしの 3.1%, 3.6% (ACK1, SRC)、リンパ節転移ありの 9.4%, 13.1% (ACK1, SRC) で確認でき、リンパ節転移ありで多いことを確認した。3q26 – 29 にある、PI3KCA, EPHB3, ACK1 を含んでいる領域に共増幅を確認した。また、20q11 – 13.1 にある、HCK, SRC, STK15 を含んでいる領域に共増幅を確認した。異なった領域にあるキナーゼ遺伝子を含んでいる領域でも共増幅を確認した。

[考察]

キナーゼは分子標的治療のターゲットとして知られているが、いくつかのキナーゼ遺伝子の増幅や変異がどのように生じ、存在しているかについての情報や理論は少数の報告を除いて、知られていない。キナーゼ遺伝子を含んでいる領域の各症例あたりの増幅の箇所は、増幅の箇所の増加に従って減少した。この状況はおそらく確率的な現象として、特定の領域の増幅を反映していると予想される。これらのキナーゼ遺伝子の増幅はときには、がんの進行(リンパ節転移)に関与すると考えられ、異なった領域の多数の増幅はがん細胞の染色体の大きな変化に影響していると予想される。組織マイクロアレイは組織内で異数性がある場合など、正確な検出が難しい場合があるので、考慮する必要がある。アレイのコアサイズを大きくし、同一症例で数か所みるなどの工夫も必要になると考えられる。

[結論]

10 種類のキナーゼ遺伝子をターゲットにした FISH 検査は日常的な診断業務において、利用しやすい検査と考えられる。多数の領域の増幅を観察することは治療戦略を立てる上で参考になり、特に 2 種類から数種類のキナーゼ阻害剤を投与する場合に役立つと思われる。遺伝子増幅は確率論的に生じ、いくつかのキナーゼ遺伝子の増幅は病気の早期の段階で始まり、一方ではがんの転移や進行と関係している。