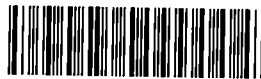


コピー数変化を示す染色体部分をマーカーにした胃癌の系譜解析

16590275

平成 16 年度～平成 17 年度科学研究費補助金
(基盤研究 C)研究成果報告書

滋賀医科大学附属図書館



2005014933

平成 18 年 6 月

研究代表者 服部 隆則

滋賀医科大学 医学部教授

<はしがき>

本研究では、染色体レベルの genotype に基づいた新しい系譜解析を各種胃癌に適用することによって、形態や粘液形質の面から同じものとして分類されていた腫瘍どうしが、異なる系譜上にある可能性がないかどうかを明らかにしようとした。

研究組織

研究代表者：服部 隆則(滋賀医科大学医学部教授)

研究分担者：杉原 洋行(滋賀医科大学医学部助教授)

研究分担者：向所 賢一(滋賀医科大学医学部助手)

(研究協力者：彭 敦発、凌 志強、坪佐 恭宏、吉村彰伸、九嶋亮治)

交付決定額(配分額)

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合 計
平成 16 年度	1,400,000	0	1,400,000
平成 17 年度	1,300,000	0	1,300,000
総 計	2,700,000	0	2,700,000

研究発表

(1) 学会誌等

Peng D-F, Sugihara H, Mukaisho K, Ling Z-Q, Hattori T. Genetic lineage of poorly differentiated gastric carcinoma with tubular component analysed by comparative genomic hybridization. Journal of Pathology, 203 (8): 884-895, 2004.

九嶋亮治、向所賢一、服部隆則. 発癌の遺伝子機構と組織発生の多様性. 臨床消化器内科, 19 (7): 798-806, 2004.

Tsubosa Y, Sugihara H, Mukaisho K, Kamitani S, Peng D-F, Ling Z-Q, Tani T, Hattori T. Effects of degenerate oligonucleotide-primed polymerase chain reaction amplification and labeling methods on the sensitivity and specificity of metaphase- and array-based comparative genomic hybridization. Cancer Genetics and Cytogenetics, 158 (2): 156-166, 2005.

Kushima R, Vieth M, Mukaisho K, Sakai R, Okabe H, Hattori T, Neuhaus H, Borchard

F, Stolte M. Pyloric gland adenoma arising in Barrett's esophagus with mucin immunohistochemical and molecular cytogenetic evaluation. Virchows Archiv, 446: 537-541, 2005.

Yoshimura A, Sugihara H, Ling Z-Q, Peng D-F, Mukaisho K, Fujiyama Y, Hattori T. How wild-type *TP53* is inactivated in undifferentiated-type gastric carcinomas: Analyses of intratumoral heterogeneity in deletion and mutation of *TP53*. Pathobiology (in press)

(2) 口頭発表

杉原洋行、彭 敦發、服部隆則:胃癌の系譜解析:腺管成分を含む低分化腺癌の由来. 第93回日本病理学会、札幌、2004.6.9-11.

吉村彰伸、杉原洋行、彭 敦發、服部隆則:未分化型胃癌における17p欠失の意味. 第93回日本病理学会、札幌、2004.6.9-11.

杉原洋行、彭 敦發、服部隆則:未分化胃癌の系譜解析. 第14回日本サイトメトリー学会、群馬(高崎)、2004.6.25-26.

吉村彰伸、杉原洋行、彭 敦發、服部隆則:未分化型胃癌における17p欠失の生物学的意味. 第14回日本サイトメトリー学会、群馬(高崎)、2004.6.25-26.

吉村彰伸、杉原洋行、服部隆則:未分化型胃癌における17p欠失の生物学的意味. 第63回日本癌学会、福岡、2004.9.29-10.1.

杉原洋行、彭 敦發、服部隆則:腺管成分を含む未分化型胃癌の由来. 第63回日本癌学会、福岡、2004.9.29-10.1.

九嶋亮治、服部隆則:胃型の腺腫と腺癌. (ワークショップ) 第94回日本病理学会総会、横浜、2005.4.14-16

吉村彰伸、杉原洋行、服部隆則:未分化型胃癌における腺管形成とp53. 第94回日本病理学会総会、横浜、2005.4.14-16.

服部隆則: 胃癌病理の歴史—発癌から診断まで (Pathology of Gastric Cancer - History and recent Development) (教育講演) 第78回日本胃癌学会総会、大阪、2006.3.9-11、2006.

Sugihara H, Peng D-F, Ling Z-Q, Mukaisho K, Hattori T: Comparative genomic hybridization (CGH)- based lineage analysis of undifferentiated-type gastric carcinomas. The 4th Asia-Pacific IAP (International Academy of Pathology) Congress, 2005/8/22-26, Beijing (China)

(3) 出版物

なし

研究成果

これまで CGH による系譜解析で、早期の印環細胞癌 (SIG) の染色体変化が進行期の diffuse 型未分化型胃癌の染色体変化に含まれることから、両者が同じ系譜上にあることを示してきた (Peng et al., 2003)。

本研究の初年度には、

- 1) 未分化型胃癌に対して、パラフィン包埋組織切片からレーザマイクロダイセクションで採取した細胞から DNA を抽出、DOP-PCR にて全ゲノム増幅を行った後、CGH、ゲノム DNA マイクロアレイを用いた、ゲノムレベルでの多様性およびゲノムの経時的変化の解析を、症例とサンプリングポイントを増やし、組織形態、粘液形質との対応付けを行いつつ進めた。未分化型では27例の解析を終え、多数サンプルの CGH 解析データから dendrogram を作成し、染色体変化のプロセスを再構築し、各腫瘍で初期に変化する染色体部分を同定した (Peng et al., 2004)。
- 2) 症例の中から、腺管成分を一部に含む未分化型胃癌を抽出し、それらに対して dendrogram 解析を行い、単クローン性を確認した上で染色体の切断点を用いた系譜解析を行った。その結果、このような混合型胃癌の約 2/3 は腺管成分に、約 1/3 では印環細胞癌の成分に由来したことがわかった (Peng et al., 2004)。
- 3) 系譜解析を行った材料に、MUC2、MUC5AC、MUC6 による免疫組織化学的な phenotype 解析を行い、diffuse 型を含む、腺管成分 (TC) を伴わない進行期の POR (主として浸潤部) のほとんどが胃型の形質を示したのに対して、早期の印環細胞癌の 1/2 から 2/3 が胃腸混合型の形質を示した。これは、genotype からみた系譜は

phenotype では分からないことを示している。進行癌の粘膜部を調べると、早期胃癌と同様の形質を示した (Bamba et al., 2001)。このことから、TC を伴わない進行期の POR で胃型が優位なことは、(系譜ではなく) 深部浸潤と関係していると考えられる。したがって、現在多くの研究者が使っている、「胃型系列の癌」という phenotype による系譜の概念は再考を要すると考えられる。

4) CGH の標識法に検討を加え、全体的には random primer (RP) 標識の方が nick translation (NT) 標識よりもコピー数変化の検出感度が高く、FISH で直接求めたコピー数をよりよく反映することがわかったが、RP 標識では gain の、NT 標識では loss の検出感度が比較的低い傾向があった (Tsubosa et al., 2005)。

次年度では、

1. 早期の TUB や腺管腺腫を CGH 解析し、それを腺管成分 (TC) を一部に含む未分化型胃癌の複数箇所 CGH 解析結果と比較し、早期の TUB がどの程度、TC を含む POR に進展していくのかを検討した。その結果、早期癌として得られた TUB と、進行癌中の TC では染色体構成が異なることが分かった。浸潤癌中の TC では、7p+ はすでにあるものの、3p-、15q+、18q- がほとんど見られなかったが、同一腫瘍の深部浸潤性の低分化成分 (POR) ではそれらがみられた。一方、早期の TUB の中には、既に 3p-、7p+、15q+、18q- を示すグループが存在し、その一部が進行期の POR に移行する可能性もあるが、このグループには、進行期の未分化型胃癌にはあまり見られない 17p+/q+ がしばしば見られた。17p+/q+ は腺管腺腫にも見られたことから、この変化のあるものはたとえ 3p-、7p+、15q+、18q- があっても浸潤癌になりにくい可能性もある。

2. また、同じ材料を用いて、TP53 の変異と LOH を同様に複数箇所で解析した。SIG の初期成分が無く TC のある POR では、TC を含む腫瘍全体に同一の TP53 の変異と LOH がみられたことから、TC が POR に移行することが示された。また、TP53 に変異の無いものは、アレイ CGH の結果から MDM2 の過剰発現により、p53 の不活化が起こっていた (Yoshimura et al., in press)。

3. これらのことから、未分化型進行癌に進展する早期の TUB は、17p+/q+ が無く p53 の不活化が起こったものと推定されたが、そのような特徴を持つ TUB は早期癌ではまれであった。

4. 粘液形質からは同じ「胃型系列」にある、早期の分化型胃癌と未分化型胃癌 (印環細胞癌) の CGH パターンを比較したが、分化型の方が染色体変化の数が多く、変化のある染色体も両者で大きく異なっていた。分化型胃癌では腸型や混合型については検討できなかったが、今後の課題である。

まとめと今後の展開

本研究では、CGH による系譜解析を各種胃癌に適用することによって、形態や粘液形質の面から同じものとして分類されていた腫瘍どうしが、異なる系譜上にある可能性がないかどうかを明らかにしようとした。その結果、胃型分化型腺癌と印環細胞癌は、同じ「胃型系列」にあっても、CGH パタンからは異なる系譜にあることが分かった。一方、腺管成分(TC)を伴わない進行期の POR(主として浸潤部)のほとんどが胃型の粘液形質を示したのに対して、早期の印環細胞癌の 1/2 から 2/3 が胃腸混合型の粘液形質を示した。CGH による系譜解析では、早期の印環細胞癌が進行期の未分化型胃癌になることが示されているので、粘液形質は系譜を反映するものではなく、進展過程で変化したり、選択されたりすると考えられた。また、分化型の早期癌が未分化型の進行癌に移行することが多くの研究者によって想定されているが、この両者の間には、CGH や *TP53* の変化から見る限り、系譜上は必ずしも連続していないことが分かった。一方、同じ方法を使って、TC を伴う未分化型胃癌の 2/3 が腺管腺癌に由来することが明らかになったことから、分化型の未分化型化が存在することは明らかであるが、通常分化型の早期癌が未分化型化することは、多くの研究者が想定しているよりもまれな事象である可能性がでてきた。この点は早期癌の治療を考える上でも極めて重要であるので、さらに系譜解析のデータを蓄積して解明しなければならないと考えている。