

論文の要約

報告番号	① 乙	医 第 1228 号	氏 名	井上 篤
学位論文題目	B-RAF mutation and accumulated gene methylation in aberrant crypt foci (ACF), sessile serrated adenoma/polyp (SSA/P) and cancer in SSA/P.			
<p>論文の要約</p> <p>近年、大腸癌の発生経路として大腸鋸歯状病変から発癌する serrated pathway が注目されている。大腸鋸歯状病変の一つである Sessile serrated adenoma/polyp (SSA/P) は右側結腸に好発し、p16 などの遺伝子のメチル化を認めることから microsatellite instability (MSI) 陽性癌の前病変と考えられている。しかし、SSA/P の発生機序の詳細は不明である。</p> <p>一方、aberrant crypt foci (ACF) は、メチレンブルーに濃染する大腸微小病変として報告され、動物の大腸発癌モデルにおいて前癌病変と考えられている。われわれはこれまで、拡大内視鏡を用いてヒトの主に直腸及び左側結腸の ACF を観察し、ACF の前癌病変としての意義を報告した。本研究では、SSA/P 患者における右側大腸(上行結腸及び盲腸)の ACF を観察し、ACF、SSA/P 及び cancer in SSA/P 組織を用いて各種遺伝子解析を行うとともに、メチレーションアレイによりメチル化遺伝子の網羅的解析を行った。また、SSA/P 患者を対象に右側大腸における ACF の陽性率や数を調べ、ACF の SSA/P-cancer sequence の前病変としての意義を検討した。</p> <p>まず ACF、SSA/P 及び cancer in SSA/P 組織における B-RAF 遺伝子変異を 2-step-PCR-RFLP 法により調べたところ、いずれも 66.7% (10/15), 80% (16/20), 100% (2/2) と高率に陽性であった。一方、K-RAS 遺伝子変異はいずれも低率であった。PCR-SSCP 法により MSI 解析を行ったところ、cancer in SSA/P では MSI-high (MSI-H) を 50% (1/2) に認めしたが、ACF 及び SSA/P に MSI-H は認められなかった。次に、MIAMI 法によりメチレーションアレイ解析を行ったところ、ACF、SSA/P、cancer in SSA/P それぞれ 11.3 ± 7.7 個、37.0 ± 17.3 個、193 ± 39 個のメチル化遺伝子を認め、この順に有意に増加した ($p < 0.05$)。SSA/P 組織では、PQLC1、HDHD3、RASL10B、FLI1、GJA3、SLC26A2 の 6 遺伝子にもっとも高率にメチル化を認めた。ACF 組織では、これらの 6 遺伝子のうちの一部にメチル化を認め、cancer in SSA/P では 6 遺伝子全てにメチル化を認めた。これらのメチル化は MSP 法によっても確認された。また、免疫染色により、これらの遺伝子発現が消失または減弱していることが確かめられた。次いで、SSA/P 症例 38 例及び健常人 20 例を対象に、右側大腸における ACF の陽性率及び数を検討した。その結果、SSA/P 症例における ACF の陽性率及び数は健常人に比べて有意に高かった ($97.4\% \text{ vs } 10.0\%$, $p < 0.01$, 3.79 ± 2.11 個 $\text{vs } 0.10 \pm 0.33$ 個, $p < 0.01$)。また、SSA/P 症例では SSA/P の数と ACF の数に有意な相関を認めた ($p < 0.05$)。</p> <p>以上の結果より、SSA/P 症例においては右側大腸の ACF は、SSA/P の前病変であることが示唆された。また、B-RAF 変異と 6 遺伝子 (PQLC1, HDHD3, RASL10B, FLI1, GJA3, SLC26A2) の一部のメチル化により ACF が発生し、これらを含む遺伝子のメチル化が蓄積することにより SSA/P に進展し、MSI を来す MLH1 のメチル化や p53 変異により発癌することが示唆された。</p>				