

氏 名 (本 籍)	盧 彰 伸 (吉村 彰伸) (韓国)
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	博 士 (論) 第 3 3 9 号
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 授 与 年 月 日	平 成 1 8 年 9 月 1 3 日
学 位 論 文 題 目	How Wild-Type <i>TP53</i> Is Inactivated in Undifferentiated-Type Gastric Carcinomas: Analyses of Intratumoral Heterogeneity in Deletion and Mutation of <i>TP53</i>  (未分化型胃癌において野生型 <i>TP53</i> はどのようにして不活化されるのか: <i>TP53</i> の欠失と変異の腫瘍内多様性の解析)
審 査 委 員	主 査 教 授 木 村 博 副 査 教 授 岡 部 英 俊 副 査 教 授 清 水 猛 史

## 論文内容要旨

※整理番号	343	(ふりがな) 氏名	(よしむら あきのぶ) 吉村 彰伸
学位論文題目	How Wild-Type <i>TP53</i> Is Inactivated in Undifferentiated-Type Gastric Carcinomas: Analyses of Intratumoral Heterogeneity in Deletion and Mutation of <i>TP53</i> (未分化型胃癌において野生型 <i>TP53</i> はどのようにして不活化されるのか: <i>TP53</i> の欠失と変異の腫瘍内多様性の解析)		
<p>【研究の目的】</p> <p>最近、胃癌が進行に伴って分化型から未分化型へ変化するため、進行期の未分化型胃癌(UCG)は早期の未分化型だけでなく分化型の早期胃癌にも由来しているのではないかと考えられている。我々は、comparative genomic hybridization(CGH)による染色体分析から、UCG が確かに印環細胞癌(SIG)を含む未分化型胃癌だけでなく腺管腺癌(TUB)にも由来すること、由来と深く関わる組織学的特徴があることを示してきた。SIG の最も初期には層構造(LS)が見られることが知られている。LS は進行した SIG の粘膜にも見られ、TUB にはほとんど見られない。腺管成分(TC)はTUBだけでなく、SIGにも由来する。そこでUCGでLSを伴ったもの(LS+)をSIG由来、LSがなくTCを伴ったもの(LS-/TC+)をTUB由来と仮定した。この仮説に基づいて、この研究ではSIGとTUBで知られているゲノム変化の相違がどこまで由来の違いを反映しているのかを明らかにしようとした。具体的には、SIGとTUBの間で違った役割を演じている遺伝子の代表として<i>TP53</i>に注目した。<i>TP53</i>の変異とloss of heterogeneity (LOH)は早期胃癌では、未分化型より分化型に多く、進行期では未分化型にもしばしばみられる。これはSIGに由来する場合は<i>TP53</i>の異常がlate eventであるためか、分化型の未分化型化によるためかが問題である。この点を明らかにするために、我々は個々の病変から多数のサンプルを採取し、<i>TP53</i>変異と対応するLOHの分布を分析することによって、個々の腫瘍での<i>TP53</i>の不活化の時間的な過程と由来との関係を検討した。</p> <p>【方法】</p> <p>未分化型胃癌27例(早期癌10例、進行癌17例)の手術切除標本を用い、病変全体についてHE染色及びp53免疫染色を行った。腺頸部のムチンの乏しい小型癌細胞が徐々に成熟して粘膜表層で印環細胞化しておればLS+、腺管成分が腫瘍の30%未満である場合をTC+と定義した。免疫染色はDO-7抗体(DAKO)を用いた。LOH解析は2~12ヶ所の部位からレーザーキャプチャ法で細胞を採取し、<i>TP53</i>のマイクロサテライトマーカー(<i>TP53.PCR15</i>、<i>D17S960</i>、<i>D17S786</i>、<i>D17S1176</i>)を用いてPCRを行い、genetic analyzer (ABI PRISM 310)にて判定した。変異解析は、p53染色陽性部分から注射針を用い細胞を採取し、DNA抽出キットを用いて</p>			

- (備考)1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

DNA を抽出し、*TP53* のエクソン 5~8 に対して、SSCP でスクリーニングを行い、変異バンドを認めたサンプルに対して direct sequencing を行った。

#### 【結果】

- ①LS+は 16 例、LS-/TC+は 8 例、LS-/TC-は 3 例であった。
- ②p53 免疫染色では、LS+の 2/16、LS-/TC+の 6/8 で過剰発現があった( $p=0.005$ )。
- ③LOH 解析では、Informative な 24 例中 14 例で少なくとも 1 つのマイクロサテライトで LOH を認めた。すべての Informative なマイクロサテライトマーカーで LOH を認めたものを LOH(+)と定義すると、LS+の 3/16、LS-/TC+の 8/8 に LOH+の部分があった。
- ④点突然変異は 7 例に認めた。1 例を除き、p53 過剰発現があった。LS-/TC+のほうが LS+よりも変異の頻度が高かった( $p=0.002$ )。
- ⑤*TP53* の不活化は LS-/TC+の 6/8 にみられ 5 例では腫瘍全体にみられた。LS+ではまれ(1/12)で、あっても腫瘍の一部であった。

#### 【考察】

LS-/TC+の 5 例ではほぼ全体に *TP53* の不活化がみられ、POR と TC の両方で共通の変異を認めた。このことと、以前の CGH 解析の結果から、TUB の比較的早期の段階ですでに *TP53* の不活化が起こり、脱分化して POR になったと考えられる。

LS+では、LS-のように広範な LOH や変異は見られず、TC もしくは POR 成分に LOH や変異があっても、LS には変異も LOH も認めなかったことから、*TP53* の不活化は起こりにくく、起こっても late event と考えられた。

以上から、広範な *TP53* の不活化は、TC の有無に関わらず、LS のない腫瘍に見られ、TC よりも LS の有無が由来を反映するとして上記の仮説が支持された。

TC+の未分化型胃がん(混合型)は予後が最悪とされているが、これは TUB の脱分化とともに比較的早期から *TP53* の不活化がおこっているものが多いことと関係があるだろう。しかし、混合型の中には SIG に由来し TUB に再分化するタイプもあり、それらでは *TP53* の不活化が起こりにくいことから、予後が比較的良い可能性もある。この点を明らかにすることが今後の課題である。

#### 【結論】

*TP53* の不活化は、TUB 由来の UCG では TUB の脱分化前に起るが、SIG 由来の UCG ではまれでかつ late event として起ることがわかった。

## 学位論文審査の結果の要旨

整理番号	343	氏名	吉村 彰伸
(学位論文審査の結果の要旨)			
<p>胃癌は分化型と未分化型に二大別され、それぞれの系譜が異なると考えられてきたが、分化型が進展とともに未分化型化するものがあることが知られるようになり、従来の概念を再構築する必要が生じている。本研究では、進行期の未分化型胃癌の形成過程を野生型 <i>TP53</i> の不活化の面から調べ、このタイプの癌の由来を反映する組織所見を明らかにした。</p> <p>1) <i>TP53</i> の不活化した未分化型進行胃癌で不活化の腫瘍内分布を調べることにより、その大半がすでに <i>TP53</i> の不活化した腺管腺癌 (TUB) の脱分化によって生じ、一部では印環細胞癌 (SIG) の進展過程で不活化が起こったと推定された。</p> <p>2) <i>TP53</i> 不活化の分布パターンは、腺管成分 (TC) の有無にかかわらず、SIG の初期像である層構造 (LS) の有無によく合致したことから、TC より LS が未分化型胃癌の由来をよく反映していることがわかった。</p> <p>本研究は未分化型進行胃癌の由来を遺伝子の面から明らかにし、病理組織所見に組織発生上の新たな意味を与えた。よって博士 (医学) の学位論文に値すると認める。</p>			
(平成 28 年 9 月 5 日)			