

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士 (医 学) 氏名 加藤 麻倫

学位論文題名

低分化胃癌の個別化病理診断のための遺伝子プロファイリング
(Gene Profiling for the Personalized Pathological Diagnosis of Diffuse-type Gastric Adenocarcinoma)

【背景と目的】

胃癌とは主要な固形癌のひとつで、その死亡率は世界において第3位である。日本においても胃癌は罹患数で第2位、死亡数で第3位と上位を占める。また、育児や就労などで社会を支える中心である50歳未満の世代においてもその罹患数及び死亡数は第2位である。胃癌の発生リスクは、環境要因や遺伝要因など多岐にわたっており、多量の塩分摂取、喫煙、飲酒、epstein-barr ウイルスや *Helicobacter pylori* の微生物感染などが報告されている。また近年では次世代シーケンサーにより、びまん型胃癌におけるドライバー遺伝子として RHOA が報告された。しかしこれまで報告されている胃癌のドライバー遺伝子は少なく、また、治療対象となる遺伝子変異が見つかる確率も低い。胃癌の新しい分子学的分類の報告も複数されているが、いずれも日常診療レベルで実用可能な検査方法とは言い難い。さらに、若年発症胃癌においては、予後が悪い、組織型が低分化であることが多い、との報告がある。

現在の胃癌における治療方針は、TNM 分類に基づいて判定された臨床病期により決定される。化学療法が選択される場合は標準治療とされる抗癌剤の投与を行うが、抗癌剤の治療効果や副作用などの反応は患者個々人で顕著に異なる。そこで近年より「個別化医療」として患者個々人の状況に合わせた治療方針の決定が求められており、その治療法のひとつとして分子標的療法がある。現在、胃癌に対して保険医療の範囲内で使用可能な分子標的薬は Trastuzumab と Ramucirumab の2種類しかなく、依然として胃癌における使用可能な分子標的薬は少ない。これは胃癌の発生機序が多岐にわたり、ドライバー遺伝子の検索が困難であることが理由に上げられる。また、死亡率が高いこと、および50歳未満の世代でも罹患数や死亡数が多いことから、予後予測因子や若年発症胃癌の特徴などの検討も重要である。そこで本研究は、次世代のがん治療として求められている個別化医療の実現のための個別化病理診断システムの確立を目指し、分子発現や遺伝子変異の網羅的な検討を行い、臨床病理学的解析や予後解析を行った。

【対象と方法】

北海道大学大学院医学研究科病理学講座腫瘍病理学分野において、2003年1月から2015年12月までに病理組織診断をされた胃癌手術検体106例のホルマリン固定パラフィン包埋組織を対象とした。

胃癌取り扱い規約(第14版)に則り再検討し、ギムザ染色による *H. pylori* 感染の検討、EBER-in situ hybridization による epstein-barr ウイルス感染の検討を行った。また、25種類の免疫組織化学染色による蛋白発現解析、84遺伝子の PCR アレイ及びそれにより候補に上がった5遺伝子の

RT-PCRによる mRNA の発現解析、サンガーシーケンスによる RHOA 変異 (R5Q、G17E、Y42C) 解析、MiSeq を用いた 48 遺伝子の 212 hotspot に対するターゲットシーケンス解析および 163 遺伝子の全エクソンシーケンス解析と、多角的な解析を行った。統計解析は SPSS を用い、2 つ以上のパラメーター間の相関については Kruskal-Wallis 検定、 X^2 検定または Fisher の正確確立検定を行った。生存解析は Kaplan-Meier 法と log-rank test を用いた。 $P < 0.05$ を統計学的に有意差ありと判定した。

【結果】

低分化胃癌の発癌機序に関与する因子として、*H. pylori* 感染の有無、RHOA 変異、ARID1A 変異、TP53 変異が候補として上がった。腫瘍の脈管侵襲に関する因子として、EGFR 発現、 β -catenin の細胞膜での発現、Sox10 発現を認めた。また予後予測因子として、高度な脈管侵襲に加え、EGFR の高発現や β -catenin の細胞膜での低発現も候補に上がった。しかし、若年発症胃癌に関与する因子は認めなかった。

【考察】

本研究の結果、低分化胃癌は発生機序によって、1) *H. pylori* 感染、2) RHOA 変異、3) ARID1A 変異、4) その他、の 4 つに分けられた。また、*H. pylori* 感染または RHOA 変異を呈する症例の半数に TP53 変異も同時に認めた。TP53 はそれ単独で発癌を引き起こすドライバー遺伝子との役割を果たしているとは考えにくいため、TP53 は発癌機序分類の一つとはしなかった。また、病理学的因子である脈管侵襲に、EGFR、 β -catenin、Sox10 が関与することを認めた。EGFR が高発現であると高度なリンパ管侵襲を呈し、 β -catenin の細胞膜での発現が低下すると高度な脈管侵襲を呈し、Sox10 が低発現であると高度な静脈侵襲を呈した。これらの結果を元に、低分化胃癌のための診断スキームを作成した。

本スキームは、現時点ですぐに実用可能な分子発現に基づいた個別化診断と、今後実施されることが期待される遺伝子変異に基づいた個別化診断の 2 つから構成される。分子発現に基づいた個別化診断における検討方法は免疫組織化学染色であり、これは通常業務で行われている作業のためすぐに施行可能である。また、遺伝子変異に基づいた個別化診断における検討方法は次世代シーケンサーと免疫組織化学染色である。現在次世代シーケンサーを有する施設は限られているものの、現在進行形で北海道大学病院がん遺伝子診断部では行われている作業であり、今後さらなる広い臨床応用が期待される。今後はバスケット型の臨床試験を実施し、各群における使用薬剤の有効性の検証が必要である。また症例数を増やし、遺伝子増幅や融合遺伝子、胚細胞性変異など検討対象を広げて大規模解析を行うことで、さらなる低分化胃癌の発生機序や若年発症症例に特徴的な因子の発見が期待される。

【結論】

本研究では、低分化胃癌を蛋白発現・mRNA 発現・DNA 変異と多角的で網羅的な検討を行い、臨床病理学的因子との関連因子や予後予測因子、また若年発症症例に特徴的な因子の解析をした。その結果を元に臨床現場で実用可能な低分化胃癌のための診断スキームを作成した。今後は、バスケット型の臨床試験による使用薬剤の有効性の検証や、症例数を増やして検討対象を広げた大規模解析による、低分化胃癌の発生機序や若年発症症例の特徴的な因子の発見が期待される。