

|              |   |
|--------------|---|
| Title        | Molecular clonality of in-transit melanoma metastasis   |
| Author(s)    | 中山, 貴寛  |
| Citation     | 大阪大学, 2001, 博士論文  |
| Version Type |   |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/42685">https://hdl.handle.net/11094/42685</a>   |
| rights       |   |
| Note         | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。 |

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

|            |   |
|------------|---|
| 氏名         | なか やま たか ひろ<br>中 山 貴 寛  |
| 博士の専攻分野の名称 | 博 士 (医 学)   |
| 学位記番号      | 第 1 6 1 1 5 号   |
| 学位授与年月日    | 平成13年3月23日  |
| 学位授与の要件    | 学位規則第4条第1項該当<br>医学系研究科外科系専攻   |
| 学位論文名      | Molecular clonality of in-transit melanoma metastasis<br>(悪性黒色腫の経路転移における分子学的同一性の検討) |
| 論文審査委員     | (主査)<br>教授 野口眞三郎<br><br>(副査)<br>教授 門田 守人 教授 吉川 邦彦                                   |

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 【背景および目的】

In-transit melanoma metastasis は悪性黒色腫の再発形式の一つで、患者の約10-20%がこの形式で再発するとされている。このタイプの腫瘍は悪性度が高く、度重なる手術にもかかわらず再発を繰り返し、さらには全身疾患に発展する予後不良の病態である。臨床的には腫瘍がリンパ行性に転移をする際に原発巣とリンパ節との間のリンパ管に腫瘍細胞が塞栓することにより起こるとされており、腫瘍進展の初期段階に位置すると考えられている。したがって遺伝子変異からみた腫瘍進展を検討するのに最適なモデルとなる。しかしながら、本疾患の遺伝子変異に関して検討された報告はこれまでにない。本研究では、in-transit melanoma において microsatellite marker を用いた LOH 解析を行ない、腫瘍の molecular clonality (本研究においては遺伝子変異における同一性と定義) や特異的遺伝子変異について検討を行なった。

#### 【方法】

1. AJCC Stage III に分類される in-transit melanoma と診断され、同一患者より少なくとも2病変以上が入手可能であった25症例より採取された79病変(2-9病変/1症例)と入手可能であった原発巣10病変を対象とした。
2. パラフィン包埋組織片から10 $\mu$ mの切片を2-3枚作成し、H&E染色を施した標本を参考にして腫瘍部分のみを切除しDNAを抽出した。対象DNAは抹消血リンパ球から抽出または病理学的に正常と診断された組織をパラフィン切片より切除し抽出した。
3. 腫瘍組織と正常組織のDNAを6つの異なる染色体上に存在する8セットの蛍光ラベルされた microsatellite marker を用いてPCR法にて増幅し、ポリアクリルアミドゲルにて電気泳動後、蛍光専用の解析装置でLOHの判定を行ない各腫瘍間のLOHを比較検討した。さらに入手可能であった10症例の原発巣からDNAを抽出して同様の方法を用いてLOHを解析し、各々の原発巣に対応する in-transit melanoma のLOHと比較検討した。
4. laser capture microdissection (LCM) 法を用い同一腫瘍内の異なる部位より組織を採取しDNAを抽出後、上記の方法にてLOHを解析し同一腫瘍内における遺伝子変異の同一性の検討を行った。

#### 【成績】

1. 25例中19例(76%)に少なくともひとつの microsatellite marker においてLOHが検出された。使用した8セットの microsatellite marker のうちD9S157(56%)において最も高頻度にLOHが検出された。以下D9S304

(44%)、D11S2000 (41%)、D10S212 (35%)、D1S214 (32%) の順であった。以上のことより in-transit melanoma において高頻度に LOH が検出されることがわかった。

2. 79病変中6病変 (7.6%) にのみ腫瘍間の LOH パターンの相違がみられた。このことより in-transit melanoma は遺伝子変異における同一性の高い病変であることが示唆された。
3. 腫瘍間に LOH パターンの相違がみられた6症例について、LCM法を用いて同一腫瘍内の異なる3箇所から組織を採取し、腫瘍内の LOH パターンについて検討した結果、78箇所 (3箇所×26病変) 中7箇所 (9%) にのみ同一腫瘍内での LOH パターンの相違がみられた。以上より腫瘍内においても遺伝子変異における同一性の高い病変であることが示唆された。
4. 入手可能であった10症例の原発巣と in-transit melanoma の LOH を比較検討した結果、5症例の転移巣において新たな LOH が検出された。また新たに検出された5症例の LOH のうち3症例の LOH が D10S212 におけるものであった。以上より in-transit melanoma の転移の成立において in-transit melanoma に特異的な遺伝子変異の獲得の必要性が示唆された。

#### 【総括】

本研究より in-transit melanoma において高頻度に LOH が検出されることが証明された。また悪性黒色腫の腫瘍進展において初期段階に位置する in-transit melanoma において遺伝子変異における同一性が高いことが示唆された。さらに、in-transit melanoma の成立に必要な特異的な遺伝子変異の存在が推測され、この遺伝子変異は悪性黒色腫の診断・治療において有用な腫瘍マーカーとなりうる可能性があると思われた。

### 論文審査の結果の要旨

In-transit melanoma metastasis は悪性黒色腫の再発形式の一つで、悪性度が高く予後不良の病態である。臨床的には腫瘍がリンパ行性に転移をする際に原発巣とリンパ節との間のリンパ管に腫瘍細胞が塞栓することにより起こるとされており、腫瘍進展の初期段階に位置すると考えられている。したがって遺伝子変異からみた腫瘍進展を検討するのに最適なモデルとなる。

本研究では、25症例より採取された in-transit melanoma 79病変と原発巣10病変を対象として microsatellite marker を用いた LOH 解析を行ない転移巣間の遺伝子変異における同一性の検討を行なった。さらに laser capture microdissection (LCM) 法を用いて同一腫瘍内における LOH パターンの相違についても検討を行った。

解析の結果(1)25例中19例 (76%) に少なくともひとつの microsatellite marker において LOH が検出され、in-transit melanoma において高頻度に LOH が検出されることがわかった。(2)79病変中6病変 (7.6%) にのみ腫瘍間の LOH パターンの相違がみられ、in-transit melanoma は遺伝子変異における同一性の高い病変であることが示唆された。(3)腫瘍間に LOH パターンの相違がみられた6症例について、LCM法を用いて同一腫瘍内の LOH パターンの相違を検討し、腫瘍内においても遺伝子変異における同一性の高いことが示唆された。(4)原発巣と in-transit melanoma の LOH を比較検討により腫瘍転移の成立において in-transit melanoma に特異的な遺伝子変異の獲得の必要性が示唆された。

本研究より in-transit melanoma において高頻度に LOH が検出されることが証明された。遺伝子変異における同一性が高いことが示唆された。さらに、in-transit melanoma における特異的な遺伝子変異の存在が推測され、この遺伝子変異は悪性黒色腫の診断・治療において有用な腫瘍マーカーとなりうる可能性があると思われた。本研究は in-transit melanoma の遺伝子変異について解析を行なった初めての研究報告であり学位の授与に値すると思われる。