



Title	Molecular analysis of diminutive, flat, depressed colorectal lesions : Are they precursors of polypoid adenoma or early stage carcinoma?
Author(s)	森田, 哲史
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46043
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について こちら をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	もり た てっ し 森 田 哲 史
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 8 9 5 2 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 16 年 6 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	Molecular analysis of diminutive, flat, depressed colorectal lesions : Are they precursors of polypoid adenoma or early stage carcinoma ? (大腸微小平坦陥凹型病変の分子生物学的解析)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 門 田 守 人 (副査) 教 授 青 笹 克 之 教 授 野 口 眞 三 郎

論 文 内 容 の 要 旨

〈目的〉

大腸平坦陥凹型病変 (DPdep) は、正常粘膜面からわずかに隆起し中央に陥凹を持つ病変である。我が国の研究者により初めて報告されたが、通常の内視鏡や注腸検査での診断が難しいことから欧米から注目されるようになったのは最近のことである。これまでの報告では DPdep は小さな病変でも組織学的異型度が高いものが多いと考えられている。しかし、微小な DPdep は診断に高度の技術が必要のためサンプル収集が困難であることから、多数の DPdep を集めてその特徴を解析した報告は一切無い。当然、その分子生物学的特徴や大腸発癌過程における位置付けは未だ明らかになっていない。本研究では、DPdep が直径 5 mm 以下の超微小な段階ですでに悪性性質を備えているのか否かを明らかにし、またその遺伝子変異の特徴を分子生物学的に解析し大腸発癌における意義を検討することを目的とした。

〈対象・方法と結果〉

大腸発癌経路としては adenoma-carcinoma sequence (ACS) が主たるものとされ、その発癌過程でさまざまな因子の関与が報告されている。本研究では、ACS で変異が報告されている *K-ras*, p53 とともに腫瘍増殖因子の Ki-67、発現が大腸発癌に強く関与するとされる COX-2 について解析した。1994 年から 97 年に大腸内視鏡下に切除した腫瘍径 5 mm 以下の大腸微小平坦陥凹型病変 (DPdep) 81 例を対象とし、対照群に腫瘍径 5 mm 以下の隆起型微小病変 (DPpo) 68 例を同時に解析した。HE 染色で病理組織学的に炎症や過形成を除く腫瘍性病変と診断した DPdep 79 例、DPpo 35 例について *K-ras* codon12 の変異、P53 蛋白の異常蓄積、Ki-67 labeling index、COX-2 蛋白の発現を解析した。統計的有意差は、Ki-67 は Mann-Whitney test、異型度と COX-2 は Chi-square test、*K-ras* は Fisher exact test を行い、 $p < 0.05$ を有意とした。

1) HE 染色による病理組織診断：内視鏡的に DPdep と診断し切除を行った病変 81 例の中で mild dysplasia 以上の異型を示す腫瘍性病変は 79 例 97.5%、DPpo 群 68 例中 35 例 51.5%であった。DPdep 81 例中 moderate dysplasia、severe dysplasia (粘膜内癌) は 15 例 (18.5%)、8 例 (9.9%) であったのに対し、DPpo 68 例では 1 例 (1.5%)、0 例であった。DPdep は DPpo に比し有意に腫瘍性病変が多く異型度も高かった ($p < 0.0001$)。

- 2) *K-ras* codon12 の変異: パラフィン切片より DNA を抽出し PCR-RFLP 法を用いて変異の有無を解析した。DPdep 群では 8.6% (5/58 例) と DPpo 群 25.0% (6/24 例) より低い傾向にあったが有意差は認めなかった ($p=0.073$)。
- 3) p53: 免疫染色で p53 蛋白の異常蓄積の有無を検討した。p53 陽性の癌組織を positive control とし、染色性の変化を比較した。DPdep 77 例、DPpo 33 例のいずれにも p53 蛋白の異常蓄積は認めなかった。組織学的に severe dysplasia (粘膜内癌) と診断した DPdep 8 例においても異常集積は認めなかった。
- 4) Ki-67 labeling index: 免疫染色を施行し染色陽性細胞の割合をコンピューターソフト (Mac SCOPE) にて算出した DPdep 群 49 例は中央値 0.0 (0.0-5.9) と DPpo 群 27 例 4.5 (0.0-17.1) に比較し有意に低かった。 ($p=0.0281$)
- 5) COX-2: 免疫染色で蛋白の発現の度合いを (-)、(+), (++) の 3 段階評価し検討した。(+)、(++) を発現有りとして検討した結果、発現を認めたのは DPdep 群 16.7% (9/54 例) で DPpo 群 13.0% (3/23) と同程度であった。DPdep に特徴的な所見はなかった。

(総括)

大腸微小平坦陥凹型病変は隆起型病変に比しより高度な組織学的異型を示していた。分子生物学的な解析の結果、ACS の初期段階で異常を認める *K-ras* 遺伝子変異の頻度は隆起型病変より少ない傾向にあり、同じく ACS で癌化の critical point に働く p53 蛋白の異常は認めなかった。また、Ki-67 labeling index、COX-2 蛋白の発現についても隆起性病変との差は認めなかった。従って DPdep は ACS と異なる独特の発癌経路を有することが考えられる。今後更なる分子生物学的な解析が待たれるが、本研究によって DPdep は腫瘍径が僅か 5 mm 以下でも組織学的異型度が高いことが初めて明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

Adenoma-carcinoma sequence は大腸発癌の主要経路とされており、隆起型腫瘍がこの経路に属する。一方、隆起性変化を経ない表面型大腸腫瘍の存在も知られているが、その発癌機序は明らかにされていない。その理由は、表面型大腸腫瘍の初期病変と考えられる微小平坦陥凹型病変のサンプリングが困難なため、多数例での分子生物学的検討が不可能であったからである。本研究では、平坦陥凹型病変が 5 mm 以下の超微小な段階ですでに悪性形質を備えているのか否かを明らかにし、またその遺伝子変異の特徴を分子生物学的に解析し大腸発癌における意義を検討することを目的とした。1994 年～97 年に大腸内視鏡下に切除した腫瘍径 5 mm 以下の大腸微小平坦陥凹型病変 81 例と、対照群として同サイズの隆起型病変 68 例を解析した。検討項目は病理組織学的組織異型度、Ki-67 index、COX-2 蛋白発現、p53 蛋白の異常蓄積、*K-ras* codon12 の変異とした。その結果、Ki-67 index は陥凹型で有意に低く、COX-2 の発現頻度は陥凹型と隆起型で同程度であった。p53 免疫染色は陥凹型、隆起型の全例で陰性であった。*K-ras* 遺伝子変異の頻度は陥凹型で隆起型に比し低い傾向にあった。更に、陥凹型で *K-ras* 遺伝子変異と明らかな COX-2 発現を示すものもあった。本研究の結果、大腸微小平坦陥凹型病変は 5 mm の段階ですでに高度な組織学的異型を示していることがはじめて明らかとなった。また微小陥凹型病変の一部には adenoma-carcinoma sequence にみられる分子異常があるものがあったが、多くの病変は adenoma-carcinoma sequence に特徴的な分子異常を呈さず、異なる発癌経路の存在が示唆された。以上の研究は、大腸発癌経路の解明に貢献するものであり学位の授与に値すると考えられる。