

京都大学	博士（医学）	氏名	熊谷 健
論文題目	Expansion of gastric intestinal metaplasia with copy number aberrations contributes to field cancerization (コピー数異常を伴う胃腸上皮化生の拡大は領域性の癌化に寄与する)		
(論文内容の要旨)			
<p>【目的】 腸上皮化生は胃へのピロリ菌 (<i>Helicobacter pylori</i>) 感染に引き続いて生じ、腸上皮化生を認める胃は胃癌のリスクであるといわれている。腸上皮化生自体が胃癌のリスクであるのか、それとも炎症に伴う交絡因子であるのかについては、腸上皮化生腺管自体のゲノム変化に関する知見が乏しいため議論が続いている。そのため、胃腺管自体におけるゲノム異常に着目して研究を行った。</p> <p>【方法・結果】 (1)単一腺管におけるゲノム異常の解析 内視鏡的粘膜下層剥離術により粘膜下層まで採取した胃組織から、内視鏡下かつ実体顕微鏡下に腸上皮化生と判断した部位を採取し上皮のみを分離した。Alcian Blue 染色により杯細胞を染色することで腸上皮化生腺管を非化生腺管と識別し、一腺管単位で分離した。一腺管単位の全エクソン解析を行うために、同一腺管の溶解液を2つに分割し、全ゲノム増幅行程を並行して行った。次世代シーケンサーを用いてそれぞれの全エクソン解析を行い、97.7%(258/264)の変異が一致したことで解析の質が高いことを確認した。<i>H. pylori</i> 感染早期胃癌患者 11 症例、<i>H. pylori</i> 感染非胃癌患者 4 症例、<i>H. pylori</i> 未感染患者 3 症例から 56 腺管を分離し、粘膜内癌 11 検体とともに全エクソン解析を行った。また同様の手法を用いた既報の <i>H. pylori</i> 未感染患者 8 症例 13 腺管由来の次世代シーケンサー解析生データ、および公開データベースの胃癌データを再解析した。平均変異数は腸上皮化生で 80.8、非化生腺管で 29.8、<i>H. pylori</i> 未感染の正常腺管で 17.8 と腸上皮化生に有意に変異が多く ($p < 0.05$)、変異数はいずれの群も年齢と強く相関した ($R^2 = 0.934, 0.825, 0.894$)。腸上皮化生の変異数は粘膜内癌(89.65)および Stage I A 胃癌(81.4)と同等であった。腸上皮化生は変異を獲得しやすいことを示唆する。同一粘膜から得られた腺管の変異が一部共通しており、起源を同一とした腺管が領域を拡大していることを示唆する。</p> <p>(2) 腺管集塊におけるゲノム異常の解析 腸上皮化生で高頻度に獲得される変異を調べるために、同一患者から分離した多数の腺管集塊を 1 サンプルとして、胃癌で高頻度に変異が見られる 98 遺伝子に絞って 26 症例 96 検体で Target sequencing を行った。<i>MUC6</i> は非化生腺管集塊で多く変異が見られたが、腸上皮化生で多く変異が見られた遺伝子やアレル頻度が高い変異は認めなかった。遺伝子変異が腸上皮化生を形成する原因ではなく、腸上皮化生の領域進展にも寄与していないことを示唆する。</p> <p>(3)単一腺管および腺管集塊における発現解析 腸上皮化生が多くの変異を獲得する原因を調べるため、腸上皮化生および非化生腺管集塊由来の RNA を用いて Transcriptome 解析を行ったところ、腸上皮化生は DNA 修復、G2/M チェックポイントおよび有糸分裂紡錘体に関する発現が低下していた。腸上皮化生は修復機構の働きが減弱することにより変異が蓄積しやすいことを示唆するとともに、コピー数変化が出現しやすいことを示唆する。</p> <p>(4)単一腺管および腺管集塊におけるコピー数解析 単一腺管および腺管集塊の次世代シーケンサーから得られたリードカウントデータを用いてコピー数の解析を行い、既報および公開データベースの胃癌データと比較した。腸上皮化生腺管の 24% (7/29)、非化生腺管の 19%(4/21)にコピー数増加を認めたが、正常腺管には認めなかった。腸上皮化生腺管集塊の 45.8%(33/72)で胃癌と同様の部位にコピー数増加を認め、非化生腺管集塊では 8.3%(2/24)にとどまった。腸上皮化生腺管集塊でみられたコピー数変化の 49% (42/86) はサンプル内の 50%以上の細胞に共有されており、コピー数変化は腸上皮化生の領域拡大に寄与していることを示唆する。</p> <p>【考察】 腸上皮化生腺管は、ゲノム修復に関する機能が低下することで癌と同程度に多くの変異やコピー数変化が蓄積したそれ自体が高リスクな腺管であり、コピー数変化を有する腺管が領域をもって拡大することで発癌の素地を形成していることが示された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

胃癌は主に *Helicobacter pylori* 感染胃に生じ、腸上皮化生 (IM) を伴う胃粘膜は胃癌のリスクが高いとされているが、IM 自体がゲノム変化の豊富な易癌化状態であるかは不明である。本研究では、IM 腺管および非 IM 腺管の網羅的なゲノム解析を行うことで、IM 腺管が癌リスク腺管であるかを解明することを目的とした。

1 腺管あたりで、IM 腺管は非 IM 腺管の 2.7 倍、ピロリ未感染胃腺管の 3.4 倍の遺伝子変異を有しており、IM 腺管の変異数は Stage I A の胃癌が有する変異数と同等であった。

IM 腺管の変異パターンは胃癌と同様に主に COSMIC Mutational Signature pattern 1 に分類され、細胞分裂が亢進していることが示唆された。トランスクリプトーム解析では IM は非 IM と比較して DNA 修復や細胞分裂時のチェックポイント、および染色体分離に関する発現が低下しており、ゲノムが不安定性となっていることが示唆された。

IM 腺管は分裂しながら領域を拡張しており、腕単位でのコピー数増幅が共有されていた。IM にみられる腕単位でのコピー数増幅は粘膜内癌と同様の部位に同程度生じており、局所的なコピー数変化は粘膜内癌で多くみられた。これらのコピー数変化は粘膜下層浸潤胃癌ではさらに目立った。

以上のゲノム解析結果から、IM は胃粘膜内癌と同程度のゲノム異常を有しており、胃癌のリスクであることが示唆された。

以上の研究は胃発癌に関わる腸上皮化生の特長の解明に貢献した。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和 4 年 6 月 23 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降