

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

博士の専攻分野の名称	博士（医学）	氏名	松本 健太
学位授与の条件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
<p>論文題目 Genomic Landscape of Early-stage Colorectal Neoplasia Developing From the Ulcerative Colitis Mucosa in the Japanese Population （日本人における潰瘍性大腸炎関連早期大腸腫瘍の遺伝子解析）</p>			
論文審査担当者			
主査教授	大毛 宏 喜	印	
審査委員 教授	稲 葉 俊 哉		
審査委員 准教授	大 上 直 秀		
<p>〔論文審査の結果の要旨〕</p> <p>潰瘍性大腸炎（ulcerative colitis; UC）の長期罹患患者は、大腸炎関連癌（colitis-associated cancer: CAC）の発症リスクが高く、大腸内視鏡検査を用いたサーベイランスによるその早期発見が重要である。UC 粘膜から発生する大腸腫瘍（Colorectal neoplasia developing from the UC mucosa: CRNUC）には、炎症由来（colitic）と孤発性（sporadic）があり、両者を鑑別することは治療法の決定（colitic は全大腸切除術，sporadic は局所切除）に重要であるが、HE 染色による病理組織診断では正確な鑑別は困難なことが多い。近年、次世代シーケンサー（Next Generation Sequencer: NGS）などシーケンス技術の進歩に伴い、網羅的なゲノム解析が可能となった。CAC におけるゲノム解析では TP53, RNF43 の遺伝子が通常大腸癌（colorectal cancer: CRC）と比較して頻繁に変異が認められることが報告されているが、これらの報告は浸潤癌を用いた研究であり、colitic と sporadic の鑑別も行われていない。本論文は、dysplasia も含めた早期 CRNUC の遺伝学的特徴を明らかにし、CRNUC を colitic と sporadic に鑑別することを目的として研究を行った。1998 年 6 月から 2018 年 7 月に広島大学病院で外科切除または内視鏡切除を施行した UC 患者 32 例の早期 CRNUC 36 病変（T1 癌 10 病変，dysplasia 26 病変）を対象とした。ホルマリン固定パラフィン包埋切片から、腫瘍部と非腫瘍部をレーザーマイクロダイセクションにて切り出し、DNA を抽出してシーケンスライブラリーを作製し、43 の標的遺伝子（既報で日本人集団の invasive CAC と強い関連を示した遺伝子）に対して NGS を用いたディープシーケンスを行い、正常粘膜での変異と対比することで体細胞変異を同定し、この変異データを臨床情報と比較した。解析結果を上述の invasive CAC と散発性進行大腸癌の集団である The Cancer Genome Atlas-CRC (TCGA-CRC) のシーケンスデータと比較検討した。また、p53 免疫染色を行い、染色パターンを positive/ weakly</p>			

positive/ negative/ completely negative に分類した。さらに鋸歯状病変の有無についても病理組織学に評価した。

遺伝子解析の結果、CRNUC で変異頻度の高い遺伝子は APC (47.2%) , TP53 (44.4%) , KRAS (27.8%) , PRKDC (27.8%) , CSMD3 (22.2%) であった。TP53 変異は TCGA-CRC ではホットスポットに変異頻度が高く、遺伝子全体にびまん性に認めたのに対し CRNUC ではホットスポットに変異がなく、DNA 結合ドメインのアミノ末端部分に集中していた。p53 免疫染色が評価可能な CRNUC 35 病変の検討では、TP53 変異を有する 15 病変のうち 12 病変は positive/ weakly positive で、3 病変は全て completely negative で、全てノンセンス変異であった。一方、TP53 変異のない 20 病変のうち、18 病変が negative、2 病変が weakly positive であり、p53 免疫染色と TP53 変異はほぼ一致していた。

TP53 変異の有無別に他遺伝子の体細胞変異比率を検討したところ、TP53 変異を有する 16 病変のうち 1 病変、TP53 変異のない 20 病変のうち 9 病変で KRAS 変異を認め、KRAS と TP53 の変異が相互に排他的な関係にあった。TP53 と KRAS の遺伝子変異と臨床病理学所見との関連の検討では、内視鏡による大腸背景粘膜の炎症の程度を表す Mayo endoscopic subscore は TP53 変異例で有意に高く、KRAS 変異例で有意に低かった。また、病変の局在は UC の炎症が強いとされる直腸/ S 状結腸に TP53 変異例が有意に多く、KRAS 変異例が有意に少なかった。これらの結果から KRAS 変異例と比較して TP53 変異例では CRNUC の発癌に大腸粘膜の炎症が強く関与していると考えられた。KRAS 変異例の多くは右側結腸に位置しており、CRNUC における体細胞変異と組織学的鋸歯状病変の有無との関連を評価したところ、KRAS 変異例は変異のない症例と比較して腫瘍腺管に鋸歯状病変を有意に多く伴っていた。KRAS 変異を認めず、鋸歯状病変を伴った 5 例中 2 例に BRAF^{V600E} 変異を認めた。

以上の結果から、本論文は早期 CRNUC の発癌経路は、TP53 変異を介する colitic 群と KRAS 変異を介する sporadic 群に分類可能であることを明らかにし、TP53 および RAS/RAF 変異の検索が早期 CRNUC の分類に有用なバイオマーカーになることを示した点で高く評価される。

よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。