

|         |   |
|---------|---|
| 氏名(本籍)  | たけ うち とも よ<br>竹内朋代(神奈川県)                        |
| 学位の種類   | 博士(医学)  |
| 学位記番号   | 博甲第3179号  |
| 学位授与年月日 | 平成15年3月25日                                      |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項該当                                    |
| 審査研究科   | 医学研究科   |
| 学位論文題目  | 肺大細胞神経内分泌癌で発見されるヘテロ接合性の消失の特徴<br>—他の神経内分泌腫瘍との比較— |
| 主査      | 筑波大学教授 医学博士 三輪正直                                |
| 副査      | 筑波大学教授 医学博士 大塚盛男                                |
| 副査      | 筑波大学助教授 医学博士 鬼塚正孝                               |

## 論文の内容の要旨

### (目的)

脳の大細胞神経内分泌性腫瘍 (large cell neuroendocrine carcinoma : LCNEC) は以前よりその存在が議論されてきた腫瘍であるが、1999年のWHO分類において初めて独立した組織系として分類され、組織学的に認知された。しかし、その臨床病理学的特徴や分子生物学的性質は明らかになっておらず、特に同様に神経内分泌性性質を持つ小細胞癌との比較は組織学的にも分子生物学的にも識別が困難な場合があり、両腫瘍の特徴をより明確にすることは今後の肺癌の研究において非常に重要である。そこで、本研究ではLCNECにおいて小細胞癌で多くの遺伝子異常が報告されている第3染色体短腕、および本研究において小細胞癌に多くの遺伝子異常が認められた第22染色体長腕についてヘテロ接合性の消失 (loss of heterozygosity : LOH) の有無を解析し、両染色体領域の欠失の頻度を明らかにし小細胞癌における欠失の頻度と比較することを研究目的とした。

### (対象と方法)

複数の施設で登録された肺腫瘍の切除標本のホルマリンまたはメタノール固定パラフィン包埋薄切切片を用いた。大細胞神経内分泌性腫瘍 (large cell neuroendocrine carcinoma : LCNEC) 23症例、小細胞癌 (small cell lung carcinoma : SCLC) 19症例、大細胞癌 (large cell carcinoma : LCC) 13症例、カルチノイド腫瘍 (carcinoid) 18症例の73症例を解析に用いた。材料をヘマトキシリン-エオジン (H&E) 染色後、顕微鏡下で観察しながら腫瘍細胞、非腫瘍細胞をそれぞれわけて採取し、これらの細胞よりDNAを抽出した。抽出したDNAを鋳型とし、第3染色体短腕 (3p14.2)、第22染色体長腕 (22q13.3) のマイクロサテライトマーカーを用い、PCRを行った。22q13.3についてはSCLCで特に染色体欠失が多いことをAP-PCR (arbitrarily primed polymerase chain reaction) で見出した領域である。得られたPCR産物をポリアクリルアミドゲルに電気泳動し、ABI PRISM 377 DNA Sequencer (Applied Biosystems Corporation, Md. USA) で泳動像やバンドの強度、大きさを解析しLOHの有無を調べた。また、3種類の神経内分泌マーカーを用いた免疫組織化学的検討やLOHの有無による組織形態像の特徴の違いを検討した。

### (結果)

3p14.2領域ではLCNEC、SCLCともに高頻度にLOHが認められたが、22q13.3領域ではSCLCにのみ高頻度のLOHが認められた。また、両領域共のLOH所見を組み合わせるとSCLCでは両領域共にLOHが認められる症

例が多く存在するが、LCNECではこのように両領域共にLOHが認められる症例は2例のみであった。これらの2症例はいずれも核は小型で明瞭な核小体もみられず、むしろSCLCに類似した両者の鑑別が難しい形態を持つことが分かった。また、神経内分泌マーカーを用いた免疫組織化学染色ではSCLCやカルチノイド腫瘍では3種類の神経内分泌マーカー全てが陽性を示す症例が多かったが、LCNECでは3種類の神経内分泌マーカーが全て陽性を示す症例は少なくSCLCやカルチノイド腫瘍との間に統計学的に有意差が認められた。

#### (考察)

肺癌で多くの遺伝子異常が報告されている3p14.2領域ではLCNEC、SCLC共に高頻度にLOHが認められる。LCNECもSCLCも共に免疫組織学的には神経内分泌性性質を示す腫瘍であるが、3p14.2や22q13.3領域のLOHを組み合わせて解析することによって、より正確に鑑別できることが明らかになった。また、両領域共にLOHの認められた症例は2例のみであったが、いずれも核は小型で核小体は目立たず、典型的なLCNECの組織像とは異なりむしろSCLCとの類似性が観察されるような形態学的にも診断の難しい症例であることがわかった。

#### (結論)

1. 3p14.2領域のLOHはLCNECとSCLCで高頻度に認められたが、22q13.3領域でのLOHはSCLCにのみ高頻度に認められ、両腫瘍で欠失のパターンに差があることが分かった。
2. 特に両領域共にLOHを認めるものがSCLCに多く存在したが、他の組織型ではこのような症例が少なく、両領域を解析することでLCNECとSCLCの鑑別がより正確にできる可能性が示唆された。
3. 両領域共にLOHのあるLCNECは形態学的にもSCLCとの類似性が認められた。
4. 3p, 22qのLOHのパターンで免疫組織学的に神経内分泌性性質を示すLCNECとSCLCが比較的明瞭に分類できる可能性が示唆された。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は近年独立した組織系として分類された肺大細胞神経内分泌癌(LCNEC)の染色体異常の傾向について解析したものである。本研究では、22q13.3領域におけるLOHの頻度を調べることにより、LCNECと小細胞癌とを鑑別することができる可能性が明らかとなった。LCNECに対して適切な治療法を選択する上でもLCNECと小細胞癌を正確に鑑別する事は非常に重要であり、本研究はこの可能性を示したものとして高く評価される。

よって、著者は博士(医学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。