

氏名（本籍）	村田 佳彦（群馬県）		
学位の種類	博士（医学）		
学位記番号	博甲第 7084 号		
学位授与年月	平成26年 4月30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	人間総合科学研究科		
学位論文題目	ECT2 is a new prognostic marker for early lung adenocarcinoma (ECT2 は、初期肺腺癌における新しい予後予測マーカーである)		
主査	筑波大学教授	医学博士	有波 忠雄
副査	筑波大学教授	医学博士	島居 徹
副査	筑波大学准教授	博士（工学）	奥脇 暢
副査	筑波大学講師	博士（医学）	栗島 浩一

論文の内容の要旨

(目的)

腫瘍の発生増悪のメカニズムを解明するには、初期病変、すなわち前臨床がんにかかる異常を探究することが必須である。肺腺癌に関しては、EGFR、KRAS、ALKなど多くの遺伝子変異が見つかったが、これらの遺伝子異常の多くは進行肺腺癌を用いて検討されていて初期浸潤性肺腺癌に注目した検討はない。さらに、EGFR、c-myc、METを除いた肺腺癌における遺伝子コピー数異常はほとんど報告されていない。そこで、小型肺腺癌において、非浸潤癌(Type A、B)と初期浸潤癌(Type D、E)におけるゲノム増幅異常を網羅的に検出し、肺腺癌の初期悪性化に関わるような遺伝子異常を明らかにすることを目的とした。

(対象と方法)

野口分類の Type A の 86 例と Type D、E の 9 例を用いて Array-CGH を行い、染色体異常（ゲノム増幅）の領域を特定した。その領域に含まれる遺伝子について、Array-CGH で使用した症例を含む Type A、B の 15 例と Type D、E の 17 例を用いて Quantitative Real-Time genomic PCR を行い、Array-CGH の結果を検証した。さらに、小細胞肺癌、扁平上皮癌を除く症例を対象にした肺癌 69 例（進行肺腺癌 51 例、大細胞癌 6 例、多形癌 12 例）を追加して種々の遺伝子に対してゲノム増幅の程度を検証した。また、Quantitative Real-Time genomic PCR によって得られたゲノム増幅の程度が、タンパク発現にどの程度相関しているのか、Quantitative Real-Time genomic PCR の腫瘍/正常比がすべての遺伝子で 1.0 以下だった 20 例と、それぞれの遺伝子で 1.5 またはそれ以上だった症例（ECT2: 11 例、EIF5A2: 9 例、PIK3CA: 13 例、TNFSF10: 12 例）を用いて免疫組織化学染色を行い、各遺伝子の発現

を定量化し、検討を行った。ゲノム増幅とタンパク質発現との間にもっとも強い相関傾向を認めた ECT2 について、浸潤性肺腺癌 66 例を用いてさらに免疫組織化学染色を行い、その発現と予後との関連を検討した。また、ECT2 は細胞分裂に関与しているとの報告があることから、核分裂に関与する Ki-67 labeling index や mitotic index との相関を検討した。さらに、国立がんセンター病院の症例に対して、10k-SNP array、cDNA microarray を用いて今回の検討結果を検証した。

(結果)

Array-CGH の結果、Type A、B に比べ、Type D、E で、3q 領域が有意に増幅していた。3q 領域の中でも、3q26 領域に最も多く遺伝子増幅が認められ、その中には、ECT2、EIF5A2、EVI1、PIK3CA、TNFSF10、SKIL、TERC の 7 遺伝子が含まれていた。Quantitative Real-time genomic PCR を行い、Array-CGH の結果を再現できたのは、ECT2、EIF5A2、PIK3CA、TNFSF10 であった。これらの遺伝子に対して、Quantitative Real-time genomic PCR によるゲノム増幅の程度と免疫組織化学染色におけるタンパク発現異常との相関を検討したところ、ECT2 が最も強い相関傾向にあった。そこで ECT2 について、浸潤性肺腺癌 66 例を用いて免疫組織化学染色による発現と予後との相関を検討したところ、ECT2 の高発現群では、有意に予後不良であった。また、Ki-67 labeling index や mitotic index とも相関した。本研究結果を国立がんセンター病院の症例を用いて検証した。小型肺腺癌 64 例を用いて 10k-SNP array を行うと、ECT2 は初期浸潤癌において増幅が認められ、早期浸潤性肺腺癌 144 例を用いて cDNA microarray を行うと、ECT2 の発現は独立した予後因子であることが確認された。

(考察)

Array-CGH を用いた解析で非浸潤癌 (Type A、B) に比べ、初期浸潤癌 (Type D、E) において有意に 3q 領域に増幅が認められた。今回の結果は 3q 領域には、肺癌においてがんの悪性化 (転移・浸潤) に関与する遺伝子が含まれている可能性が示唆される。その中でも、3q26 領域に含まれる ECT2 (Epithelial cell transforming sequence 2) は、今回解析した遺伝子の中で最もタンパク発現と関連し、予後とも関連した重要な遺伝子異常 (増幅と発現亢進) と考えられた。ECT2 は、細胞分裂や細胞増殖、浸潤に関与することが報告されている。本研究で明らかになった様に ECT2 のゲノム増幅や発現亢進は肺腺癌発生の極めて初期に起こる異常で、腺癌の悪性化にあたって細胞分裂能力の亢進 (ECT2 の異常) が重要な要因であることが示唆された。

審査の結果の要旨

(批評)

本論文は、小型肺腺癌の中で、初期浸潤癌に有意に認められる増幅領域として 3q26 領域を明らかにし、さらに 3q26 領域に存在する遺伝子群のなかで ECT2 のゲノム増幅と発現亢進が肺腺癌発生の初期から認められる重要な予後予測因子であり、腫瘍の初期悪性化に関わることを発見し、報告したものである。

平成 26 年 3 月 6 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。