

学位論文審査の結果の要旨

審査区分 ① 課・論	第603号	氏名	齋藤 衆子
審査委員会委員		主査氏名	河野 寛司 
		副査氏名	猪股 雅史 
		副査氏名	谷川 雅人 
<p>論文題目 A temporal shift of the evolutionary principle shaping intratumor heterogeneity in colorectal cancer (大腸がんにおける腫瘍内不均一性を形成する進化原理の時間的変化)</p> <p>論文掲載雑誌名 Nature Communications</p> <p>論文要旨 申請者は、大腸がん発生早期における腫瘍内不均一性および進化を明らかにするため、大腸腺腫および大腸粘膜内がん (precancerous lesion of colorectal cancer ; PCRC) 10 症例を対象に、次世代シーケンサーを用いた多領域解析を行った。腫瘍の複数部位から新鮮凍結サンプルを採取し、レーザーマイクロダイセクション法により腺腫部分と腺がん部分から別々に DNA を抽出した。続いて抽出した DNA の全エクソームシーケンスを行い、スーパーコンピュータにより遺伝子変異解析、系統樹解析およびコピー数変異解析を行ない、先行研究で得られている進行大腸がん (advanced CRC ; ACRC) のデータと比較した。 その結果、PCRC は ACRC と比較して一腫瘍の全領域に存在する ubiquitous 変異が少ないことを示した。また Treeomics で、PCRC の系統樹は幹が短く枝の長い形態をしたものが多く、ドライバー遺伝子変異は幹より枝に多く存在していた。これらの所見から、大腸がんの腫瘍内不均一性の形成にはがん発生早期には自然選択 (ダーウィン進化)、がん進行期には中立進化が寄与すると結論づけた。さらにコピー数変異が腺腫、粘膜内がん、進行がんの順に段階的に増加したことから、コピー数変異が病変の悪性転化に関与する可能性を示した。 本論文は大腸がんの腫瘍内不均一性の形成に関する新たな知見を提示しており、大腸がん治療抵抗性の分子レベルでの解釈ならびに大腸がんに対する新たな治療戦略において重要な洞察を与えている。審査員の合議により本論文は学位論文に値するものと判定した。</p>			

学 位 論 文 要 旨

氏名 齋藤 衆子

論 文 題 目

A temporal shift of the evolutionary principle shaping intratumor heterogeneity in colorectal cancer

(大腸がんにおける腫瘍内不均一性を形成する進化原理の時間的変化)

要 旨

【緒言】長年、がんは変異の蓄積と自然選択が繰り返される直線的な進化によって形成される遺伝的に均一な細胞集団、すなわちクローンであるという見方が主流であった。しかしながら、近年、次世代シーケンサーを用いた腫瘍の複数の部位からの DNA をシーケンスする多領域解析により、多くの腫瘍は遺伝学的に不均一であることが明確になってきた。この腫瘍内不均一性と呼ばれる現象は、がんの進化の過程におけるクローンの分岐によって引き起こされ、がんの治療抵抗性や再発の一因であると考えられる。これまでに、進行大腸がんは腫瘍内不均一性が顕著な腫瘍であり、それが細胞の生存に有利にも不利にも働かない変異によって起こる中立進化によって形成されることが示されていた。しかし、大腸がん発生早期における腫瘍内不均一性および進化については詳細不明のため、本研究は大腸腺腫および早期がんの多領域解析を行うことにより、この点を明らかにすることを目的とした。【対象と方法】大腸腺腫および大腸粘膜内がん (precancerous lesion of colorectal cancer, PCRC) 10 症例からそれぞれ正常粘膜 1 か所と腫瘍部分を 4~7 か所採取した新鮮凍結サンプルを薄切し、レーザーマイクロダイセクション法により腺腫部分と腺がん部分を分離して収集した。それぞれから抽出した腫瘍 DNA (53 サンプ

ル) と対応する正常大腸粘膜 DNA (10 サンプル) に対して、次世代シーケンサーを用いて全エクソームシーケンスを実施した。スーパーコンピューターを用いてシーケンスデータに対して遺伝子変異解析、系統樹解析およびコピー数変異解析を行い、既存の進行大腸がん (advanced CRC, ACRC) のデータと比較した。【結果】一塩基置換と短い挿入/欠損を含めた遺伝子変異に関して変異数は、PCRC と ACRC で同程度であった。しかし、PCRC では、ACRC と比較して一腫瘍の全領域に存在する ubiquitous 変異が少なく、部分的に存在する heterogeneous 変異が多い傾向にあり、特に 2 か所以上で共通している shared 変異は有意に多かった。系統樹を構築すると、PCRC の系統樹は幹が短く枝の長い形態をしたものが多かった。また、ドライバー遺伝子変異は幹より枝に多く存在した。さらに、shared 変異のアレル頻度は PCRC で有意に高かった。これらの結果は、大腸がん早期病変が自然選択を経て進化していることを示唆している。一方、コピー数変異は腺腫、粘膜内がん、進行がんの順に段階的に増加していった。このことは、腺腫から腺がんへと形質転換したり、悪性度を増したりする上でコピー数変異が遺伝子変異よりも強く寄与していることを示唆した。【考察】今回の結果から、大腸がん発生早期には腫瘍内不均一性の形成に自然選択が寄与していると考えられた。これまでの進行性大腸がんを観察された中立進化と統合すると、大腸がんの進化は 2 段階に分かれていると考察される。大腸腫瘍発生早期は、生存に有利には他開くドライバー変異を獲得した複数のサブクローンがそれぞれ自然選択を経てアレル頻度の高い集団を形成し、徐々に増大する。ある程度増大した腫瘍は、血流や酸素、その他の栄養、空間的な制限、免疫などの微小環境からの選択圧を受け増大が制限される。これを克服しがんへと悪性転化したサブクローンが選択的に生き残り、進行大腸癌ではすべての細胞に共通したクローンとなる。その後、中立進化によってさらに多くのサブクローンへ分かれ、顕著な腫瘍内不均一性が形成される。また、コピー数変異が、腺腫より粘膜内がんで多いという結果は、コピー数変異が、悪性転化の際に重要な役割を果たしている可能性を示唆している。【結語】大腸がん早期病変における多領域解析を行い、大腸がん発がん早期は自然選択によって腫瘍内不均一性が形成され、悪性度が高くなると中立進化へと、進化の様式を変化させることが判明した。