

Title	多段階発がん過程におけるDNAメチル化の変化
Sub Title	
Author	金井, 弥栄(Kanai, Yae)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2004
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.81, No.1 (2004. 3) ,p.63- 64
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	話題
Genre	Journal Article
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20040300-0063">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20040300-0063</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

## 多段階発がん過程における DNA メチル化の変化

臨床的観察ならびに疫学的解析から、ヒトのがんの多くが長い時間と複数の段階を経て発生するという事実が広く認識されるようになってきている。多段階発がん過程に対応して、がん遺伝子の増幅やがん抑制遺伝子の変異ならびに染色体の欠失が蓄積することが報告されてきた。しかし、従来行われてきたジェネティックな異常の解析のみでは多段階発がん過程の全体像をいまだ十分に説明できないことから、発がんにおけるエピジェネティック機構、すなわち DNA の塩基配列の変化を伴わない生物情報の変化が近年大いに注目されている。DNA メチル化の変化は、発がんにおける主要なエピジェネティック機構のひとつである。

がん細胞においては、5-メチルシトシンの総量は正常細胞に比して減少しているが、正常細胞でメチル化を受けていない CpG 配列がメチル化され、すなわち DNA メチル化が局所的に亢進することが知られている。DNA メチル化の変化がヒトのがんの発生に寄与するいくつかの機構が想定されている。第一に、5メチルシトシンが脱アミノ反応によってチミンに変化することから、遺伝子変異を蓄積させる。第二に、DNA メチル化の変化は染色体構造に影響を与え、染色体不安定性に結びつくと考えられている。第三に、プロモーター領域の CpG アイランドのメチル化は、がん抑制遺伝子などの発現を変化させる。

筆者等は従来、ヒトのがんにおける E-カドヘリン細胞接着系不活化機構の解明に取り組んでいた。特に浸潤性増殖傾向の著明な諸臓器の低分化がんにおいて高頻度に E-カドヘリンの発現低下を認めたことから、E-カドヘリン発現調節機構の解明を試み、1995年に E-カドヘリン遺伝子がヒトのがんにおいて DNA メチル化によって不活化される可能性を初めて提唱した。当時は DNA メチル化によって不活化されるがん抑制遺伝子として Rb・VHL のみが知られているに過ぎず、発がんにおけるエピジェネティック機構が未だ多大な注目を集めていなかった。筆者等の成果は、今日の DNA メチル化研究の隆盛に多少なりとも先鞭たり得たと考えている。

筆者は国立がんセンター研究所の研究職であるが、外科病理診断の実践に基づいて研究課題を設定し臨床に資する研究成果を挙げることを pathologist の本分と考え、同センター中央病院で多数のがん症例の生検・手術検体の病理診断にも従事している。以後、日常的な病理診断の現場で遭遇する諸臓器における前がん状態・前がん病変ならびに種々の臨床病理学的特性を示すがんにおいて、

DNA メチル化の変化の検討を積み重ねてきた。DNA メチル化の局所的な亢進は、肝細胞がんに対する前がん状態と考えられる慢性肝炎・肝硬変症の段階をはじめとする諸臓器における前がん状態において、ヘテロ接合性喪失やマイクロサテライト不安定性に先行して既に認められる一方、がん関連遺伝子の発現低下やがんの組織学的悪性度と有意に相関した。DNA メチル化の変化はヒトがんの多段階発生に早期から寄与し、DNA メチル化の変化を伴う症例は速やかに進行して悪性度の高いがんになる可能性があると考えられた。前がん段階における DNA メチル化の変化がほとんど報告されていなかった頃には、「肝硬変症すなわちがんでない状態で亢進する DNA メチル化は、発がんとは関係のない事象に違いない」との査読意見を頂き、これを撃破すべく奮起したことを思い起こす。喫煙や肝炎ウイルス・Epstein-Barr ウイルス感染などの発がんの外因と、DNA メチル化の変化の関係を示してきた。DNA メチル化により不活化されるがん関連遺伝子の新たな同定を試みた。

DNA メチル化のパターンの変化の背景にある要因として、DNA メチルトランスフェラーゼ DNMT1 の遺伝子変異をヒトのがんにおいて初めて証明した。DNMT1 の mRNA 発現は、正常肝組織に比し慢性肝炎ないし肝硬変症の段階ですでに有意に亢進することがわかった。DNMT1 の蛋白発現亢進と肝細胞がんの分化度や門脈侵襲の有無とのあいだに有意な相関を認め、DNMT1 の発現亢進を示す肝細胞がん症例において術後の無再発生存率が有意に低かった。DNMT1 の発現亢進と消化管がんの CpG アイランドメチル化形質との有意な相関を証明した。膀胱移行上皮がんの多段階発生において、DNMT1 発現は細胞増殖活性の亢進に先行して前がん段階から亢進し、特に悪性度の高い結節状浸潤がんの前駆病変と考えられている広汎進展上皮内がんの発生に寄与する可能性を示した。

DNMT3b の発現も非がん肝組織に比し肝細胞がんにおいて亢進していたが、DNMT3b は胚性幹細胞において傍セントロメアサテライト領域の DNA メチル化に必須であることが報告されている。慢性肝炎ないし肝硬変症を呈する非がん肝組織と肝細胞がんの双方で同領域の DNA メチル化減弱を検出したが、同領域における DNA メチル化減弱はクロマチン脱凝縮や染色体組み換えを促進すると考えられている。DNA メチルトランスフェラーゼモチーフの一部を欠く DNMT3b のスプライスバリエントである DNMT3b4 の発現量や、正常肝組織に発現する主たるスプライスバリエントである DNMT3b3 の発現量に対する DNMT3b4 発現量の比が、DNA メチル化減弱の程度と有意に相関することが

わかった。ヒト腎上皮由来 293 細胞に DNMT3b4 を強制発現したところ、発現量に依存してサテライト 2 における DNA 脱メチル化が誘導された。DNMT3b4 が傍セントロメアサテライト領域において DNMT3b3 と競合し、同領域の DNA メチル化が減弱して染色体不安定性に帰結する可能性があると考えられた。

現在、発がんにおける DNA メチル化に関する基礎研究の成果を、がんの臨床に結びつけるに適した機を迎えていると考えられる。今後、血清検体などにおけるメチル化 DNA 検出法の確立が、発がんリスクの評価やがんの早期診断・病態診断に寄与し、DNA メチル化の補正ががんの予防・治療に結びつく可能性が期待される。

金井弥栄 (国立がんセンター研究所 病理部)

## 乳癌診療における病理診断の役割

乳房に生じた腫瘍がどんな性質のものなのかを知るには腫瘍のヘマトキシリンエオジン (HE) 染色標本の鏡検による病理組織診断が不可欠である。また、腫瘍が悪性とわかり、手術が行われた場合には、乳房温存手術の切除範囲決定、所属リンパ節転移の有無などが HE で診断され、臨床側に伝えられてその後の治療方針決定に役立てられる。

治療方針決定や治療効果判定の際には、HE 診断が従来以上に重視される場面も出てきている。乳癌手術例の 60~70% は腋窩リンパ節転移陰性であるが、この内 10~15% で再発が見られる。そのような高リスク群を、原発巣の HE 標本にて癌細胞の顔つき (病理学的悪性度) と浸潤径から選び、術後補助療法を施行して予後を改善せしめることが標準的治療戦略となってきた。また、近年広く行われている術前補助療法の際にも、HE 標本で組織学的に癌が完全消失した場合 (pCR) は予後良好である事が明らかになり、病理学的治療効果判定の臨床的重要性が増してきている。

一方で、HE 診断だけでなく、免疫組織化学 (IHC) などの手法を用いて癌細胞における分子レベルの知見の報告を求められることも多くなった。乳癌診療の分野では、癌遺伝子 HER-2 (c-erbB-2) 過剰発現や遺伝子増幅、エストロゲン受容体 (ER)、プロゲステロン受容体 (PgR) 発現などの情報が含まれる。HER-2 を標的としたヒト化単クローナル抗体である抗癌剤トラスツズマブ (ハーセプチン) は、単剤ないしタキサン系薬剤との併用により、HER-2 過剰発現のある転移性乳癌に対して効果を表すことが示されている。また今後、術前・術後の補助療法に適応拡大すべく臨床試験が行われている。

トラスツズマブ治療適応の決定に際しては、乳癌組織

の切除標本 (10%ホルマリンで 24~48 時間固定し、パラフィン包埋された組織切片) に対する HER-2 の検査が必要となる。HER-2 検査法には蛋白過剰発現を見る IHC 法と遺伝子増幅を見る FISH 法がある。IHC 検査の結果は、癌細胞の膜染色状態と強度、面積により 4 スコアに分け、3+ を適応あり、2+ は適応可能性あり、0,1+ を適応なしとする。スコア 2+ の乳癌は全体の約 10% を占めるが、3+ と異なり診断者間の判定再現性やトラスツズマブ奏効率が低い。従ってスコア 2+ の場合は FISH 法による再検査を行い、遺伝子増幅陽性 (2 倍以上) 例のみを治療適応とすることが推奨される。ホルモン療法についても、その適応は ER または PgR 陽性乳癌であり、現在 IHC 法で ER、PgR の発現が検査されている。

HE レベルにしても分子の変化を見るにしても新たな検討を始めると、標本作製や検査自体、結果判定などの面で留意しなければならないことや、種々の業務上の問題点が出てくる。病理学的な悪性度や治療効果判定には、複数の基準が世に存在し、どの基準を採用すべきかという議論もあれば、適用上未解決の問題がある。HER-2 スコア 2+ については上記の様に FISH による再検査が必要となる。FISH は過固定だと検査の成功率が低い。ER、PgR については IHC 法にて何%以上の癌細胞が陽性だとホルモン療法の対象とすべきかについて確固たる基準はまだない。

cDNA マイクロアレイやプロテオミックス技術の進歩により短時間で何百もの特異的蛋白の異常がわかり癌の個性診断が可能となると同時に、ごく少量の血液から癌診断が出来そうな勢いである。近い将来これらの成果は臨床応用され、医療のオーダーメイド化が実現することであろう。それでも現時点では HE 診断に求められる情報はむしろ増加しているようで、HE と分子変化の双方の情報提供を必要とされる病理側の二面対応の時代は当面続きそうだ。乳房以外の臓器の腫瘍や非腫瘍性病変の診断も同様の流れにあると思われる。

津田 均 (防衛医科大学校 第二病理)

## エクソ/エンドサイトーシスによる生体機能調節

2003 年度ノーベル化学賞

本年度のノーベル化学賞はマキノ博士 (アメリカ) とアグレ博士 (アメリカ) に贈られた。受賞理由は「細胞膜に存在する、イオンや水のチャネル (通路) に関わる先駆的な発見」ということであった。マキノ博士は K イオン選択的チャネルがどのようにして K イオンと