

【23】

氏名	おかもとけんたろう 岡本 健太郎
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	乙第732号
学位授与の日付	平成26年8月26日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項
学位論文題目	Overexpression of regenerating gene Iα appears to reflect aberration of crypt cell compartmentalization in sessile serrated adenoma/polyps of the colon （大腸広基性鋸歯状腺腫・ポリープにおいて、REG Iα免疫染色の発現は陰窩上皮のcompartmentalization異常を反映する）
論文審査委員	（主査）教授 釜井 隆 男 （副査）教授 窪田 敬 一 教授 杉本 博 之

論文内容の要旨

【背景】

大腸鋸歯状病変は、従来では非腫瘍性の過形成性ポリープ（hyperplastic polyp：HP）と、腫瘍性の鋸歯状腺腫（serrated adenoma）に分類されていた。1996年にTorlakovicらが、HPとされていた中からより増殖能の高い広基性腫瘍類似病変について報告した。その後、この病変はHPから区別されるようになり、いくつかの用語の変遷を経て、近年では大腸広基性鋸歯状腺腫（sessile serrated adenoma/polyp：SSA/P）と呼ばれている。

以前のSSA/Pや10mm以上の過形成性ポリープ（large hyperplastic polyp：LHP）を対象とし、Ki67免疫染色を用いた研究では、SSA/PはHPに比べて増殖能が高く、しかも右半結腸におけるLHPの多くはSSA/Pで、左半結腸とは異なると結論されていた。その際にSSA/Pが腫瘍候補病変であるかどうか問題となっていた。

また、*Regenerating gene (REG)* は、ラットの睪島細胞のcDNAライブラリーからクローニングされたもので、そのヒトと同族のひとつをREG I α という。REG I α は生体内では睪や消化管に発現しており、細胞増殖の促進と細胞死（アポトーシス）の抑制をして、再生に関与している。REG I α は腫瘍において、 β カテニンに結びついて細胞の不死や自律性増殖に関与し、癌の増殖能と関連している。

【目 的】

今回我々は、Ki67標識率による増殖能と異なる指標としてREG I α 抗体免疫組織化学染色の発現を用いて、REG I α 陽性細胞の発現率と分布、いわゆるcompartmentalizationの異常という観点で、SSA/PとHPを対象として、腫瘍性候補病変であるかどうかを検討することを目的とした。

【対象と方法】

本研究は獨協医科大学倫理委員会の承認を得て、指針にしたがって行った。また、全ての症例のインフォームド・コンセントを取得している。

2003年1月から2010年12月までに、内視鏡的に完全切除されたLHP 64病変を対象とした。SSA/Pの診断は、病変の10%以上の領域に3項目（1. 陰窩の不規則分岐、2. 陰窩底部の水平方向への変形（逆T、またはL字型陰窩の出現）、3. 陰窩の拡張）のうち2項目以上を認めた病変とし、それ以外をHPとした。

免疫組織化学染色はREG I α 抗体を用いて行った。REG I α の評価は、杯細胞での発現を陽性と陰性に分け、これらの分布を粘膜陰窩から表層までを3分しその発現率と部位について検討した。同時に内分泌細胞やパネート細胞における発現状況についても検討した。

対象はSSA/P 53病変とHP 11病変だった。SSA/P 46/53病変（87%）とHP7/11病変（64%）が右側結腸にあった。大きさは、SSA/Pで平均13.2mm、HPで平均10.6mmだった。両者にREG I α の免疫染色を行い、(i) 内分泌細胞の発現：grade 0（陰窩底部の数個の細胞のみ発現）～3（陰窩上皮・表層上皮細胞に高密度に発現）、(ii) 染色陽性の杯細胞の分布：grade 0（陰性）～2（陰窩上皮から表層上皮までの発現）、(iii) 杯細胞の染色強度：grade 0（陰性）～2（高度）、(iv) 陰窩上皮細胞膜の染色強度：grade 0（陰性）からgrade 2（高度）のように評価した。

統計学的解析は、統計解析ソフトのR（version2.15.0）を用いた。REG I α 陽性細胞の評価について、 χ^2 test と Yates の補正、あるいは Fisher's exact test を行った。連続する数値の検定には Mann-Whitney U-test を用いた。全ての解析において $P < 0.05$ の場合に統計学的有意とした。

【結 果】

内分泌細胞の発現はSSA/Pの96%がgrade 1-3に対し、HPの73%がgrade 0 ($p < 0.001$) で、杯細胞の染色強度はSSA/Pの89%がgrade 2に対し、HPの64%がgrade 1であった ($p < 0.001$)。また、染色陽性杯細胞の分布と陰窩上皮細胞膜の発現強度にも同様の傾向があった ($p < 0.01$)。これらのREG I α 免疫染色の結果は、SSA/Pで陽性細胞の発現率と分布の異常がみられた。すなわち、表層上皮内腔側に向かいREG I α 陽性杯細胞の過剰な発現がみられ、いわゆる内分泌細胞様変化も表層1/3領域にも認められた。これらはHPの典型例とは全く異なるものであった。

【考 察】

REG I α と β カテニンに関して、肝癌の最近の研究では肝の腫瘍化において、REG I α とREG III α がWnt/ β カテニン経路の下流にあると報告されている。REG I α は腫瘍において、 β カテニンに結びついて細胞の不死や自律性増殖に関与し、癌の増殖能と関連することが過去の報告によって示されている。

今回、SSA/PとHPをREG I α の免疫染色の分布で検討したところ杯細胞の過剰発現や、内分泌細胞の表層上皮への発現の増加が、SSA/Pで特異的であることが明らかになった。また、過去の文献で明らかになった β カテニンと相関する染色態度である細胞膜以外の強発現も、HPと比較してSSA/Pで有意であった。したがって、SSA/PはHPに比べて有意に増殖能が高く、しかもcompartmentalizationの異常を有する病変であると考えられた。

今回の結果で、REG I α 陽性細胞の発現率と分布の異常は、SSA/Pのいわゆるcompartmentalizationの異常があると結論することができた。

【結 論】

SSA/PとREG I α の関連を調べた研究は初めてである。REG I α の過剰発現（発現パターンの異常）は、HPと比較しSSA/Pに特徴的であり、陰窩上皮細胞のcompartmentalizationの異常と関連していることを明らかにした。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

【論文概要】

大腸広基性鋸歯状腺腫・ポリープ（sessile serrated adenoma/polyp：SSA/P）は、陰窩上皮のcompartmentalizationの異常を有する病変である。また、*regenerating gene*（REG）は、ラットの睪島細胞からクローニングされたもので、そのヒトと同族のひとつをREG I α という。REG I α は腫瘍において、 β カテニンに結びついて細胞の不死や自律性増殖に関与し、癌の増殖能と関連している。申請論文では、SSA/Pが腫瘍性候補病変であるか否かをREG I α 免疫染色を用いて検討することを目的として、内視鏡的に完全切除された10mm以上の過形成性ポリープ（hyperplastic polyp：HP）64病変を対象としている。SSA/Pは、大腸癌研究会の診断基準に合致する病変とし、それ以外をHPとしている。REG I α の発現の評価は、1）内分泌細胞の発現、2）染色陽性の杯細胞の分布、3）杯細胞の染色強度、4）陰窩上皮細胞膜の染色強度について検討している。また、REG I α の発現パターンとKi67のcompartmentalization異常の相関も評価している。

結果、対象の内訳はSSA/P 53病変、HP11病変だった。内分泌細胞の発現、杯細胞の分布や染色強度、陰窩上皮細胞膜の発現強度の全ての評価項目において、HPに比べてSSA/Pで、REG I α 陽性細胞の発現率の増加と分布の異常が有意差をもってみられている。すなわち、表層上皮内腔側に向かいREG I α 陽性杯細胞の過剰な発現がみられ、内分泌細胞様変化も表層1/3領域にも認められている。また、REG I α の過剰発現とKi67のcompartmentalization異常も有意差をもって相関している結果が得られている。

SSA/PにおけるREG I α の発現は、HPの典型例とは全く異なるものであり、REG I α 陽性細胞の発現率と分布の異常は、SSA/Pのcompartmentalization異常を反映しているものと結論づけている。

【研究方法の妥当性】

申請論文では、全国諸施設から集められた豊富な症例を用いて、倫理委員会の承認が得られた標準的な実験方法で研究が行われている。REG I α 染色は、既知の報告に基づいて行われている。客観的

に統計学的解析が行われており、本研究方法は妥当なものである。

【研究結果の新奇性・独創性】

SSA/Pに対して、REG I α 免疫染色を行い、compartmentalizationの評価を行った研究は初めてである。REG I α の過剰発現が、SSA/Pのcompartmentalizationに異常があることを明らかにしている。この点において本研究は新奇性・独創性に優れた研究と評価できる。

【結論の妥当性】

申請論文では、多数の症例を、適切な設定の下、確立された実験方法と統計学的解析を用いて、REG I α の発現パターンの異常とSSA/Pにおける陰窩上皮細胞のcompartmentalization異常との関連を研究している。そこから導き出された結論は、論理的に矛盾するものではなく、また、腫瘍学、分子生物学、病理学など関連領域における知見を踏まえても妥当なものである。

【当該分野における位置付け】

申請論文は、SSA/Pから癌が発生するserrated pathwayという癌化経路に関する研究であり、SSA/Pが腫瘍候補性病変としての性質を含有していることを示唆している。これは、近年議論の的となっているSSA/Pに対する治療方針決定の際においても大いに役立つ大変意義深い研究と評価できる。

【申請者の研究能力】

申請者は、病理学や分子生物学の理論を学び実践した上で、作業仮説を立て、実験計画を立案した後、適切に本研究を遂行し、貴重な知見を得ている。その研究成果は当該領域の国際誌に掲載されており、申請者の研究能力は高いと評価できる。

【学位授与の可否】

本論文は独創的で質の高い研究内容を有しており、当該分野における貢献度も高い。よって、博士(医学)の学位授与に相応しいと判定した。

(主論文公表誌)

Diagnostic Pathology

8 : 187, 2013