

上木 望 論文内容の要旨

主 論 文

Significant association between 53 BP1 expression and grade of intraepithelial neoplasia of esophagus: Alteration during esophageal carcinogenesis

食道扁平上皮癌化過程でのゲノム不安定性と 53BP1 核内フォーカス形成

上木 望、赤澤 祐子、三浦 史郎、松田 勝也、黒濱 大和、
今泉 利信、近藤 久義、中島 正洋

Pathology - Research and Practice, Volume 215, Issue 11, November 2019, 152601
長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 放射線医療科学専攻
(主任指導教員：中島 正洋 教授)

緒 言

食道癌は世界で 6 番目に多い癌死の原因であり、日本を含むアジアでの主な組織型は扁平上皮癌 (SCC) である。SCC の発生は、正常扁平上皮から上皮内腫瘍を経て浸潤癌へと進行する多段階プロセスであり、早期診断に基づく適切な治療が患者の予後に重要となる。腫瘍化過程にはゲノム不安定性 (GIN) が関与し、悪性度と相関することが知られている。TP53-binding protein 1 (53BP1) は DNA 損傷応答 (DDR) 分子のひとつで、DNA 二重鎖切断 (DSB) 部位に集積し、核内フォーカス (NF) を形成する。我々は様々な腫瘍で、前癌病変から内因性の DDR が亢進していて、53BP1-NF 数が増加し、癌化後にはその発現型に異常が観られることを報告してきた。内因性 DDR 亢進は GIN の指標となり、その可視化・定量は腫瘍の分子病理学的診断に寄与する。本研究は、食道癌化過程での 53BP1-NF の発現について解析し、その分子病理学的意義を明らかにすることを目的とした。

対象と方法

食道癌手術 22 症例のホルマリン固定パラフィン包埋切片を対象とした。その中に含まれる①正常扁平上皮 12 部位、②低異型度上皮内腫瘍 (LG-IN) 9 部位、③高異型度上皮内腫瘍 (HG-IN) 9 部位、④上皮内癌 (CIS) 12 部位、⑤SCC 表層 (表面から 1000 μm 以内) 9 部位、⑥SCC 深層 (腫瘍の浸潤先進部) 10 部位の合計 61 部位を解析した。異型細胞の p53 発現は免疫組織化学で核内陽性細胞 10% 以上を陽性とした。53BP1 発現は Ki-67 との蛍光二重免疫組織染色を行い、1000 倍 5 視野における 53BP1-NF を解析した。NF の発現型は (a) 不明瞭なものを安定型、(b) 明瞭なフォーカス形成を NF 型、(c) 長径 1.0 μm より大きいものを大型フォーカス (LF) 型の 3 型に分類した。各型を示す核数と、NF と Ki-67 との二重陽性核数の頻度を定量した。LF は DSB での 53BP1 異常蓄積の、二重陽性は、DDR は細胞周期停止の状態で行われるため、DDR 異常の指標とした。

結 果

- 1) p53 陽性率: p53 陽性率は正常上皮 0%、LG-IN 11.1%、HG-IN 55.6%、CIS 58.3%、SSC 表層 33.3%、SCC 深部 22.0%であった。
- 2) Ki-67 標識率: 正常上皮では 22.7%、LG-IN 26.2%、HG-IN 28.1%、CIS 40.5%、SSC 表層 41.3%、SCC 深部 34.0%であり、正常から腫瘍化進展に伴って有意に ($P<0.0001$) 増加した (ANOVA 分散分析)。
- 3) 53BP1-NF 型: NF の割合は正常上皮 16.1%、LG-IN 31.0%、HG-IN 34.5%、CIS 35.2%、SSC 表層 41.7%、SCC 深部 25.1%であった。LF 型は正常上皮 0.9%、LG-IN 4.1%、HG-IN 9.8%、CIS 10.5%、SCC 表層 11.1%、SCC 深部 3.5%、NF と Ki-67 との二重陽性核数は正常上皮 5.6%、LG-IN 10.7%、HG-IN 11.8%、CIS 15.9%、SCC 表層 19.2%、SCC 深部 8.8%であった。いずれの型も正常から SCC 表層への腫瘍化進展に伴って有意に (各々 $P=0.0002$ 、 <0.0001 、 0.0019) 増加し (ANOVA 分散分析)、さらに NF 型は正常と LG-IN ($P=0.0107$)、SCC 表層と深層 ($P=0.0371$) の間、LF 型は LG-IN と HG-IN ($P=0.0065$)、SCC 表層と深層 ($P=0.0003$) の間に有意な差を認めた (Tukey 検定)。

考 察

我々は甲状腺、皮膚、子宮頸部、尿路など、様々なヒト腫瘍組織を用いて 53BP1 の核内発現形態の変化が DDR の異常や GIN の指標となり、癌化過程と関連することを報告してきた。本研究では食道 SCC の進展過程と 53BP1-NF の数や大きさとの関連が明らかとなった。NF1 個は DSB1 個に対応すると考えられ、食道癌化過程では早期よりゲノムの傷の自然発生が亢進していて、GIN の関与が示唆される。正常上皮でも NF が 16.1%に観察されたが LF は稀で、LF は HG-IN 以上で有意な増加を認めた。正常上皮や LG-IN での NF は飲食物や喫煙などを起因とする正常の DDR 機能を、HG-IN 以上での LF は、DDR 異常の程度の違いが LG-IN との間に存在し、HG-IN は CIS と同等であることを意味する。一方、SCC 深部では表層と比較し NF、LF、二重陽性核のいずれも有意に低値であった。浸潤癌では DDR メカニズムの破綻が高度で、NF 形成が不能となるものと考察する。53BP1 発現解析は、食道上皮内病変の病理学的悪性度の分子指標となることが示唆される。