

CGH (comparative genomic hybridization 法) による肺癌細胞のゲノム変異の解析

中村 治彦*

〔目的〕 肺癌は本邦で急増中の悪性腫瘍であり、男性では癌死の第一位を占めている。女性の肺癌死も増加中であり、その対策は緊急課題である。効果的な早期診断法や、治療法を開発するためには、肺癌発生とその進展に関する基礎的研究がもっとも重要であると考えられる。

近年、さまざまな遺伝子解析手技の開発により癌が遺伝子異常に基づく疾患であることが明白となってきた。有力な仮説のひとつである多段階発癌説ではそのプロセスに多種類の癌遺伝子、癌抑制遺伝子が関与するとされている。これら遺伝子異常の多くは特定染色体領域の増幅や欠失を伴うため、遺伝子コピー数の変化として検出可能である。最近開発された CGH (comparative genomic hybridization) 法は異なる色調の蛍光色素をラベルした腫瘍 DNA と正常 DNA を正常ヒト染色体標本に対して競合的に反応させたのち、画像解析装置を用いて、染色体の増幅および欠失領域を検出するもので、腫瘍細胞ゲノムの解析を迅速に施行できる特徴がある。今回の研究では CGH で頻回に異常を検出した染色体領域に対して、肺癌細胞診用検体を対象として FISH (fluorescence *in situ* hybridization) 法による遺伝子コピー数の解析も行った。FISH 法は個々の細胞の遺伝子異常を蛍光シグナル数の変化として観察できる。

肺癌治療成績は依然として不良であり、肺癌遺伝子異常が癌の発生、浸潤、転移にどのようにか

かわるかを解明することは早期診断や治療成績の向上に役立つものと期待されたため本研究を計画した。

〔成果〕 切除腫瘍から抽出した DNA を検体として CGH 法を用いて非小細胞肺癌の DNA コピー数の変異を検出した。非小細胞癌での増幅領域は、3q, 5p, 6p, 7p, 8q, 9q, 12q, 14q, 15q, 20p, 20q, 21q, Xp, Xq に、欠失領域は 3p, 4q, 6q, 9p, 10p, 11q, 13q, 14q, 16p, 17p, 18q, 19p, 19q, 22q, Y, Xp, Xq に認めた。一方、すでに報告されている小細胞癌の増幅領域は 1, 3q, 5p, 6q, 8q, 12q, 13q, 18q, Xp, Xq, 欠失領域は 1p, 3p, 4, 5q, 8p, 9q, 13q, 15q, 17p, 19p, 19q, 22q, Y などであり、両組織型間で異常を示す染色体領域に相違が認められた。これは両組織型の生物学的態度の違いを反映しているものと考えられた。また、症例の肺癌病期と異常部位の数（増幅、欠失箇所の総和）との関係を見ると、病期の進展とともに異常数が増加する傾向を示し、肺癌の進展とともに遺伝子異常が蓄積してゆく状態を反映するものと推測された。

肺癌の細胞診用検体を用いた FISH 法による検討では、p53 遺伝子のセントロメアに対する相対的欠失は 12/28 (42.9%) に認めた。組織型別の欠失症例の割合は、腺癌 8/21 (38.1%)、扁平上皮癌 1/4 (25%)、大細胞癌 1/1 (100%)、小細胞癌 2/2 (100%) であった。病理病期別にみた欠失の頻度は I A 4/8 (50%)、I B 6/10 (60%)、II B 1/

* 研究代表者：東京医科大学第一外科学教室

5 (20%), III A 0/3 (0%), III B 1/2 (50%)であった。erbB2 遺伝子の増幅は 7/28 (25%) を認めたが、いずれも low grade の増幅であった。組織型別の増幅症例の割合は、腺癌 6/21 (28.6%), 扁平上皮癌 1/4 (25%), 大細胞癌 0/1 (0%), 小細胞癌 0/2 (0%) であった。病理病期別の増幅の頻度は I A 2/8 (25%), I B 4/10 (40%), II B 0/5 (0%), III A 1/3 (33.3%), III B 0/2 (0%) であった。その他、cyclin D 1 (11 q 13), D 5 S 23 (5 p 15.2) の増幅も FISH で確認された。検体が多く得られた末梢発生腺癌について病理病期と遺伝子異常の関係をみると、I A 期とよばれる比較的早期の段階で、すでに両者のコピー数の異常を有す

る症例が検出された。このことから、肺腺癌は径が小さく、所属リンパ節転移を認めない段階ですでに種々の遺伝子異常を有することが示された。I 期肺癌切除後に遠隔転移が出現する予後不良の症例ではこうした遺伝子異常が数多く蓄積され細胞の生物学的悪性度が高まっているものと推測され、今後、これら遺伝子異常と予後との関連を検討してゆく予定である。

今回の研究成果として、肺癌細胞にはゲノムレベルで広範な変異が観察されることが確認され、これが悪性度と関連することが示唆された。今後、CGH と FISH による遺伝子解析は癌の悪性度診断に臨床応用されてゆくものと考えられる。