



## 21世紀の大腸癌診断治療戦略

浜松医科大学 名誉教授

馬場 正三

この題名は、実は最近私が岡山大学第一外科松原長秀先生と共著で出版した『HNPCC in the year 2000』という本の副題です。大腸癌研究会においてHNPCCの登録と遺伝子解析の研究プロジェクトを担当していた関係から、わが国ではこの分野の研究を遂行するためにはいろいろな困難性があることを認識し、かねてから基礎と臨床を結ぶ目的で臨床医に役立つものを作りたいと思い纏めていました。この本はそれにイスラエルで行われたICG-HNPCC(2000)会議の発表のめぼしい発表を加えたものです。

ICG-HNPCCをイスラエルで開催することはDr. Rozenの悲願でした。イスラエルは過去数回立候補しましたが、いつも政情不安ということで票が集まりませんでした。しかし1999年の時点では和平交渉も順調に進んでいるようだったので、キリスト誕生2000年ということもあり、やっと開催にこぎつけた待望の会議でした。

本会議の場所TiberiasはJordan河が流れ込み、キリストが数々の奇蹟を行ったといわれているGalilee湖のほとりの風光明媚な場所でした。キリストの生誕地ベツレヘム、聖母マリアが受胎告知を受けイエスが伝導活動に入るまでの約30年両親と過ごしたといわれているナザレの町、聖地オリーブ山、ローマの遺跡などで時々バスをおり、遺跡めぐりをしました。ローマ軍の轍の痕、ローマ時代のモザイクの精巧さ、stone desertの中に建設された町の貯水と水道のシステムの大きさなど、いずれも驚くべきものでした。百聞は一見にしかず、といいますが、日本を発つまでは中東につい

て全く無知であったともいえる私にとり、今度の旅は2000年の歴史を実感し目から鱗が落ちる思いでした。

\*

さて本題に移ります。クリックとワトソンがDNAの二重螺旋構造をNature誌に発表したのは1953年で、私が慶応大学医学部に入学した年でした。1ページ余りの短い論文がその後のゲノム研究のスタートとなったわけです。また私が医学部を卒業した1957年に第1回世界消化器病学会がワシントンで開催され、そこでHirshowitzにより胃のFiberscopeの1号機が初めて展示されました。その後の内視鏡の進歩、ゲノム研究の成果には目を見張るものがあります。

21世紀はBioinformaticsの時代といわれています。最近の分子生物学の進歩により大腸癌はもはや単一な疾患ではなく、その発癌のpathwayの違いにより予後も術後抗癌剤に対する感受性なども異なることが次第に明らかにされつつあります。

大腸癌発癌機構のシナリオとしてまず腺腫の癌化、いわゆるAdenoma carcinoma sequence (ACS)による発癌が目目されました。Vogelsteinらは遺伝子変異の多段階的蓄積によることを提唱しました。その後、HNPCCの原因遺伝子としてミスマッチ修復遺伝子群が発見され、ACSとはレベルの異なる発癌であることが明らかにされ、散発性大腸癌の約15%にMSI-Hを認め、これらは概ねHNPCCに似た特徴的な臨床病理像を呈するようですが今後の研究課題です。

大腸癌発癌には、FAP型 (Chromosomal



instability : CIN型) と HNPCC型 (Microsatellite instability : MIN型) の少なくとも2つの genetic pathwayがあることが明らかにされています。この他にも alternative pathwayが存在すると考えられます。

はじめに、CIN型 pathwayのモデルである adenoma carcinomasequence について考えてみましょう。Vogelstein らが提唱したように APC、K-Ras、p53、DCC(DPC4)などの遺伝子異常が多段階的に蓄積することにより大腸癌に至るとするものでした。しかし DCC に関してはノックアウトマウスの実験で何ら腸管に腫瘍性病変をきたさず、最近 Netrin 1 のレセプターであることが判明したことにより、大腸癌発癌への関与は完全に否定され、代わりに18qに局在する DPC 4/Smad 4 Smad 2などが研究されています。

APC 遺伝子は adenoma carcinomasequence において gate-keeper gene の役割をしていると理解されています。即ち APC 遺伝子は  $\beta$  カテニンの negative regulator の役割を果たしており、APC 遺伝子に変異が起こると  $\beta$  カテニンは分解されずに細胞質内の  $\beta$  カテニン量が増加し、これが TCF/LEF と結合し核内に移行し転写を活性化すると考えられています。この際の主な標的遺伝子は *Cyclin D1* であることが千葉大学第1外科の鉄先生らにより明らかにされました。APC 遺伝子は多機能を有する遺伝子で、細胞回転、分化、migration、apoptosis、腸上皮細胞の脱落 (shedding off) などに関与し、大腸上皮の homeostasis を制御していると考えられています。

腺腫が発生するには APC 遺伝子の両方のアリルに異常が起こることが必要ですが、腺腫で APC 遺伝子に異常が認められない場合、 $\beta$ -catenin 遺伝子の異常を認めることがあり相補的な関係にあると考えられます。細胞内  $\beta$  カテニンの蓄積の有無は大腸癌の診断予後判定などへの応用が考えられ、 $\beta$ -catenin 遺伝子は治療上の分子標的となり得る遺伝子と思います。そこでどうして CIN が起こるの

かが Key Question になります。R. Fodde らは EC モデルを用い APC 遺伝子の  $\beta$  catenin regulatory domain、EB1 binding site の異常が CIN に関与することを、R. Boland らは JC virus の関与を示すデータを発表し、大腸癌発癌における APC 遺伝子は、ますます重要な研究対象となりました。

p53 は“ゲノムの番人 ; Guardian of the genome” と呼ばれるように、人癌の 50% 以上の癌化に関与しており、腺腫の癌化にも関与しています。p53 も多機能を有する遺伝子で、従来下流の p21 を介し細胞回転周期の G1 を停止し損傷を受けた DNA の修復を行い、修復不能の大きな損傷の場合には細胞をアポトシスに導くといわれていましたが、この振り分けがなぜ起こるのか不明でした。最近東京大学医科学研究所の中村祐輔教授のグループにより下流の遺伝子 p53R2、p53AIP1 (p53 regulated Apoptosis inducing protein 1) などの新しい発見があり、国立がんセンターの田矢洋一先生と東京大学医科学研究所の荒川博文先生との共同研究により、p53AIP1 の発現誘導は p53 タンパクの Ser46 のリン酸化によりなされることが明らかにされました。細胞の To be or Not to be は、p53 タンパクのリン酸化の部位により決まることが明らかにされたことになります。p53AIP1 はアポトシスの経路の最も下流に位置する遺伝子として治療への応用が期待されています。

更に progression に関与する癌抑制遺伝子として 8p より ream (reduced expression associated with metastasis) などの候補遺伝子も発見されました。de-novo 癌についてはなお不明の点が多いですが、p53 遺伝子の変異が APC 遺伝子変異に先立つか、またはほぼ同時に起こるのではないかと考えられています。

癌は進行癌になるほど heterogeneity を増しますが、今後 chip technology の進歩により多数の遺伝子の異常がパターンとして認識され大腸癌発癌機序が解明されることが期待されています。

次に MIN 型 pathway です。1993 年に HNPCC の



原因遺伝子がミスマッチ修復遺伝子 (mismatch repair gene: MMR 遺伝子) であることが判明し、発癌機構も生物学的特性も一般の散発性大腸癌とは異なることが明らかになりました。更に他の消化器癌、広くは癌の病態を理解するうえで大変重要な疾患であることが認識されるようにもなりました。

MMR 遺伝子に異常があれば内因的に変異源を有することになり、多臓器がん発生のリスクがある腫瘍発生学上非常に重要な疾患であります。ミスマッチ修復遺伝子の標的遺伝子として *TGF-β IIR* ( $A_{10}, GT_3$ )、*BAX* ( $G_8$ )、*IGFR* ( $G_8, CT_5$ )、*E2F4* ( $AGC_{13}$ )、*MBD4* ( $A_{10}$ )、*Caspase5* ( $A_{10}$ )、*CDX2* ( $AAG_3, G_7$ ) など Microsatellite 領域を含む遺伝子で研究が進んでいます。MMR 遺伝子の異常は癌遺伝子、癌抑制遺伝子の変異を急速に蓄積 rate-limiting な役割をすると考えられます。

現在 *TGF-β IIR* の異常により TGF の増殖抑制がはずれることにより、growth advantage を得ると説明されていますが確証はなく、なお研究が必要です。

*hMSH6*、*hMSH3*、*MBD4* の不活性化は更なる遺伝子変異の蓄積へとつながり、異常な細胞のクローンの拡大を作り出しやがて癌の発生をきたすものと思われませんが、一方多数の異常なタンパク質が腫瘍内に産生されることが autoimmune 的に作用し良好な予後につながることも考えられます。

この pathway では *p53* 遺伝子の果たす役割はあまり大きくないと考えられています。散発性大腸癌で microsatellite instability を示す大腸癌では *hMLH1* のメチル化が注目されます。

HNPCC は遺伝要因の他に環境要因が強く関与していることは各国の胃癌発症率の変遷をみても明らかです。それぞれの国で genotype-phenotype を解析することが重要な課題です。

医学環境も変換期をむかえています。この遺伝子研究の成果を臨床に役立たせるためには守秘義務と情報の解除が安全に行える医療システムの改

変、医療従事者に対する遺伝学の知識の再教育、遺伝情報を医学以外の目的で使用を制限する何らかの規制 (契約保険、雇用など) が必要であることを痛感しています。

わが国でもやっとミレニアムプロジェクトができたミレニアム指針に基づく研究がスタートできる状態ができています。指針ができる間、大腸癌研究会のプロジェクト研究、日本癌病態治療研究会の HNPCC 班のプロジェクト研究もやむなく一時休止の状態にならざるをえませんでした。しかし 4 省庁共同の共通指針ができ、今年 4 月に認知されたので、この共通指針に沿った研究計画書、新しい同意書などを作成のうえ Institutional Review Board の認可を得て近々プロジェクトを再開できる見通しができてきました。

基礎と臨床の学際的な共同研究により、未知遺伝子の解明、genotype-phenotype の解析がオール日本のレベルで行われることが必要になると考えます。

\*

大腸癌発癌の alternative genetic pathway として潰瘍性大腸炎に合併する dysplasia、癌では MSI 陽性のものがあります。潰瘍性大腸炎に合併した大腸癌 (4/12) で *E2F4* の変異を認めたとの報告もあります。炎症と癌を考える場合 MSI の果たす役割について更に研究する必要があると考えます。

極めて稀な疾患ですが無数の hyperplastic polyp を表現型とする遺伝性疾患 Familial hyperplastic polyposis が最近報告され、この疾患は癌リスクがあり serrated adenoma を合併しやすいようです。以前我々も hyperplastic polyposis と serrated adenoma 合併例に de-novo 癌を合併していた症例を経験しています。この癌では遺伝子解析の結果 *p53* の変異を認めましたが *APC* の mutation cluster region には変異を認められませんでした。

これらの alternative genetic pathway がローカルな小道なのか或いはスーパーハイウェイ的な進展の早い癌の pathway なのかは今後の研究課題です。



大腸癌に関しては粘液癌の研究をふくめ更に広く MSIを検索できるシステムが必要なのではないかと考えている次第です。

\*

2001年2月16日号 Science誌に論文が発表され、人間の遺伝子の数は予想より少なく3~4万個であることが明らかにされ、世界中に強いインパクトをあたえました。3万余の遺伝子で10万以上のヒトのタンパク質を作ることを意味し、遺伝情報が如何に巧妙に機能しているかを示しており、その謎を解くことにより新薬の開発など人類は新しい出発点に立ったともいえます。

アメリカのクリントン前大統領の肝いりで国際チームのリーダーのフランシス・コリンズとセラ・ジェノミクス社の創始者クレイグ・ベンターの世紀の会見があったことは記憶に新しいことです。Newton誌によるとクリントン大統領は“我々は今日神が生命創造時に使われた言葉を学びつつある”と語り、それを受けコリンズは“我々はこれまで神しか読んだことのなかった説明書をのぞき見た”と述べたと報じています。

いずれにしても、生命に対する高い倫理観が医師に求められています。

寿命に対する外科医の貢献度は大腸癌研究会、胃癌研究会のいずれの解析でも第4位であります。外科医はその責任の重さを認識し常に技術の修練をつむことが大切です。これに加え、外科治療の限界を謙虚に受け止め、早期から全身病となる癌のあることを知り、これをコントロールできれば外科の治療成績はさらに飛躍的に改善することを信じて新しい戦略にチャレンジすることも大切であると考えます。

期待されている血管新生抑制療法もそのひとつと思います。

マイクロチップの技術はすでに数万個の遺伝子を同時に解析できるところまできています。マイクロチップにレーザーマイクロダイセクションを組み合わせて遺伝子群の発現の変化を明らかにする体

系的、網羅的な研究は更に拍車がかかるものと考えます。さらにポストゲノム時代にはプロテインバイオチップ（プロテオミクス）に発展して行くと考えられます。

ひとつの遺伝子でなく遺伝子群のネットワークとしての解析は癌の悪性度の判定や薬剤感受性の判定に役立つものと期待されています。expression profileを解析し新しい遺伝子を見つけることは新しい創薬のための標的を探すことにつながると思います。HarvardのSamsonらは抗がん剤使用時に発現が変化する遺伝子の数は約300程度であることを明らかにしています。

その後の研究は遺伝子の機能解析に移るものと考えます。二次元の分子生物学に加えcomputerによる三次元の高次構造解析の時代になるでしょう。しかし分子生物学が21世紀の主役となるかどうかはなお倫理、コスト・ベネフィット、特許の問題など越えなければならないハードルが、多数あります。

第100回日本外科学会の特別発言でも述べましたが、これらの複雑な遺伝子群の機能を解明するには研究の精度管理が必要です。paper orientedでなく patient orientedの本当に人類に恩恵をもたらす学際的研究が求められています。それには目的のはっきりした良く計画された研究well planned researchがますます重要になると思います。

昨年のアメリカ外科学会のロゴも21世紀を見つめる視野の中に知識、熟練、技術革新に加え倫理の4項目があげられていました。北島教授が主催された第100回日本外科学会のキャッチフレーズは“未来のための今”で、そのロゴマークはhumanity心をシンボルマークとしていました。

未来のための今、外科医の立場で貢献できることも多いと思います。21世紀の主役になる若い先生方のすばらしい発表が、W'Wavesのますますの発展に寄与することを祈念しています。