

令和3年11月25日

報道機関各社 御中

山形大学医学部長
上野 義之

下記のとおりご報告いたしますので、よろしくお願いたします。

低リスク女性の表在型食道扁平上皮癌の遺伝子変化の同定

【本件のポイント】

- 食道扁平上皮癌は男性で飲酒や喫煙をされている方によくみられます。しかし、飲酒も喫煙もされない女性でも食道扁平上皮癌はみられ、この発生機序はよく分かっていません。
- 今回、この飲酒や喫煙といったリスクのない女性の食道扁平上皮癌の発生機序に *CDKN2A* 遺伝子（注1）の変化が重要な要因であることを発見しました。
- さらに *CDKN2A* 遺伝子から作られる p14ARF（注2）という蛋白が低リスク女性の非癌部の食道粘膜および食道扁平上皮癌で過剰発現していました。
- この食道扁平上皮癌の新しい発癌経路の解明は、個々人のリスクに応じた早期発見マーカーや新しい治療標的を創出する重要な糸口になることが期待されます。

【概要】

食道扁平上皮癌（ESCC）の主なリスクは飲酒、喫煙、男性です。しかし、低リスクと考えられる飲酒や喫煙をしない女性でも ESCC はしばしばみられます。なぜこのような低リスクの人から ESCC が発生するのか、その機序は分かっていませんでした。また ESCC の遺伝子解析のほとんどは進行癌を対象としており、表在癌を対象とした報告は少なく、発癌初期の遺伝子変化は不明な点が多いのが現状でした。これらを明らかにするため、我々は低リスクの表在型 ESCC 患者の非癌部、癌部の食道上皮における 409 遺伝子の変化を、次世代シーケンサーを用いて網羅的に解析しました。その結果、低リスク女性の表在型 ESCC 患者では非癌食道上皮で *CDKN2A* 遺伝子のバリエント（注3）頻度が高くなっていることを世界で初めて明らかにしました。さらに *CDKN2A* 遺伝子から作られる p14ARF という蛋白が、低リスク女性の ESCC や非癌食道上皮で過剰発現していることを発見しました。この研究から低リスクを背景とした表在型 ESCC の発生には *CDKN2A* 遺伝子の変調が重要な要因であると考えられます。このようにリスク因子別に ESCC の発癌分子経路を解明することは、個々のリスクに応じた早期発見マーカーや新しい治療標的を創出する手がかりを見出すものと期待されます。

●研究の背景

本邦の疫学調査から食道癌は男女比が約 6 : 1 と男性に多く、60~70 歳代に好発するとされます。日本を含むアジア諸国では食道癌の 80%以上は扁平上皮癌という病理組織像を呈し、腺癌が主体の欧米とは異なっています。この ESCC の危険因子として飲酒と喫煙が重要とされます。しかし、診療を行っていると飲酒や喫煙歴のない女性の ESCC 患者を一定数、経験します。なぜ、リスク因子がないと考えられる女性に ESCC が発生するのか、その機序はよく分かっていません。

そこで本研究では飲酒や喫煙といった既知のリスク因子ない女性の ESCC に焦点をあてました。臨床的特徴や癌、非癌部食道上皮の遺伝子変化を典型的なリスク因子を持つ男性と比較することで、低リスク女性における ESCC 発生の分子機序を検討しました。

●研究の成果

2009 年 2 月から 2019 年 8 月の間に山形大学医学部附属病院で内視鏡的切除を受けた表在型 ESCC 患者のうち、飲酒、喫煙歴が不明であった 2 例を除外した連続 148 例 (157 病変) を研究対象としました。女性 32 例 (22%) に比べ、男性が 116 例 (78%) と多く、男性患者では全例に飲酒ないし喫煙歴がありましたが、女性患者のうち 15 例 (45%) では飲酒、喫煙歴がありませんでした。

食道を内視鏡で観察する際にヨードを散布すると、正常な食道上皮は茶褐色に染色されますが、前癌病変は染まらず不染帯 (図 1 の赤矢印) となります。このヨード不染帯がない場合は LVL (lugol voiding lesion) grade A、1~9 個の不染帯を認めるものは LVL grade B、10 個以上の不染帯を認めるものは LVL grade C と分類 (図 1) されます。男性 ESCC 患者では LVL grade C の割合が 56%と高く、一方、飲酒や喫煙歴のない女性 ESCC 患者では grade C の方はおられず、grade A の割合が高いことが分かりました (表 1)。したがって、内視鏡所見からも、飲酒や喫煙といったリスクがある男性患者とリスクのない女性患者とでは食道上皮の状態は異なっていると考えられました。

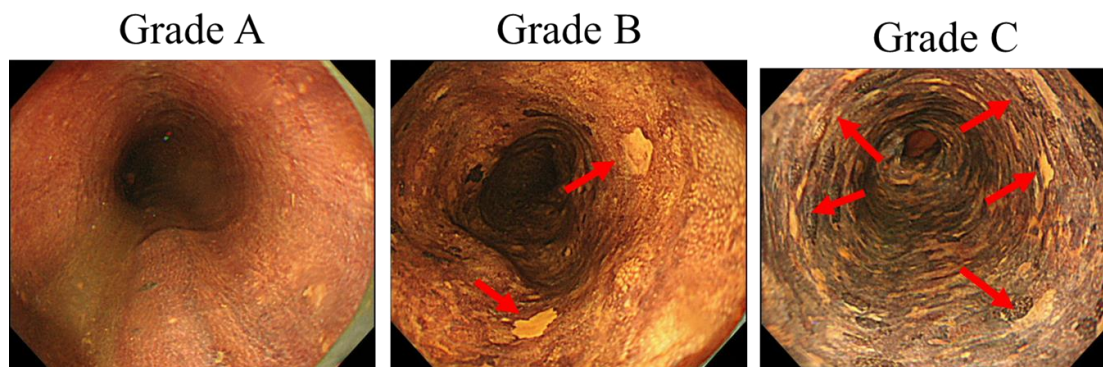


図 1 ヨード不染帯の分類

表 1. リスク因子別の臨床背景

	総数	女性 飲酒喫煙なし	女性 飲酒喫煙あり	男性 飲酒喫煙あり	p 値 (注 4)	
症例、数 (%)	148	15 (10.1)	17 (11.5)	116 (78.4)	<0.01	
年齢、中央値 (IQR) (注 5)	72 (65~76)	76 (65~78)	74 (60~76)	71 (65~76)	0.41	
LVLs 数 (%)	grade A	14 (9.5)	8 (53.3)	0 (0)	6 (5.2)	<0.01
	grade B	61 (41.2)	7 (46.7)	10 (58.8)	44 (37.9)	
	grade C	72 (48.6)	0 (0)	7 (41.2)	65 (56.0)	
	不明 (%)	1 (0.7)	0 (0)	0 (0)	1 (0.9)	

次に癌部および非癌部の食道上皮の遺伝子変化を解析するため、内視鏡的に切除された固定標本から、レーザーマイクロダイセクションという方法で顕微鏡下に癌部と非癌部上皮を分けて切り出し、切り出した組織から DNA を抽出し、次世代シーケンサーにて 409 の遺伝子を解析しました (図 2)。

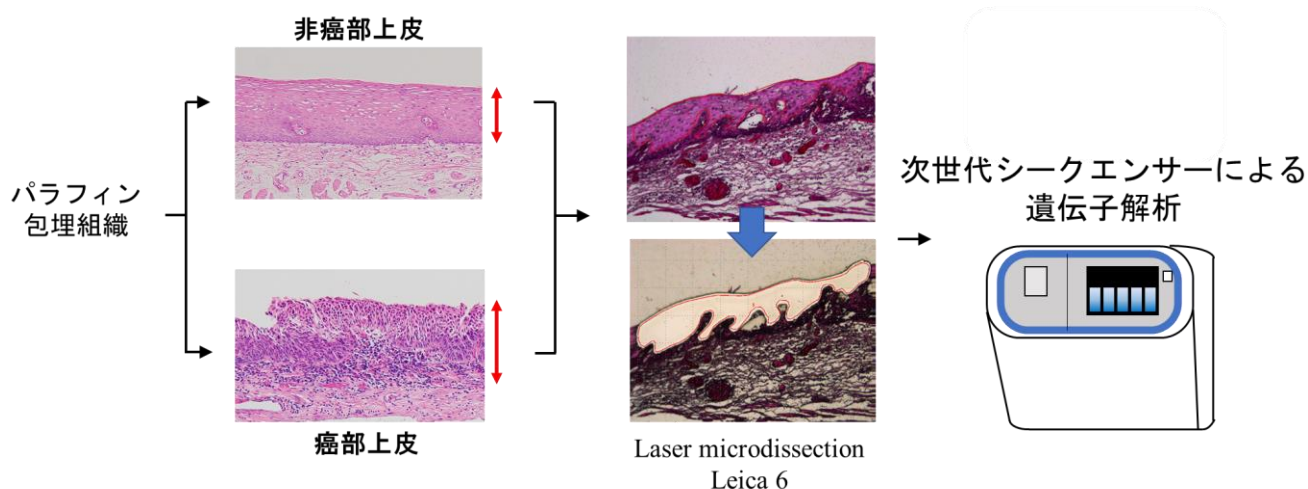


図 2 次世代シーケンサーによる解析

その結果、「男性 (全例で飲酒・喫煙歴あり)」や「飲酒や喫煙歴のある女性」に比べて、「飲酒も喫煙歴もない女性」の ESCC 患者の非癌食道上皮では *CDKN2A* という遺伝子のバリエーション頻度が高くなっていることを見出しました (図 3、4)。また *CDKN2A* 遺伝子から作られる p14ARF という蛋白の発現が、「男性」ないし「飲酒や喫煙歴のある女性」に比べ「飲酒や喫煙歴もない女性の ESCC 患者」では、癌部および非癌部上皮ともに陽性率が高いということがわかりました (図 5)。

CDKN2A 遺伝子は p16INK4A (注 6) と p14ARF の 2 つのタンパクを生成します。いずれもがん抑制遺伝子として作用し、p16INK4A は cyclin D / CDK4complex に直接結合し、Rb (注 7) タンパクのリン酸化 (注 8) を阻害することで Rb タンパクを活性化させます。

p14ARFはMDM2（注9）を捕捉することでp53（注10）のユビキチン化（注11）を阻害し、がん抑制因子であるp53を安定化させます。「飲酒や喫煙歴もない女性のESCC患者」の非癌食道上皮ではCDKN2A遺伝子のバリエントの頻度が高く、「飲酒や喫煙歴のある男性ないし女性」患者に比べて癌部および非癌部上皮ともにp14ARFの発現レベルは高いという結果でした。「飲酒や喫煙歴もない女性のESCC患者」の背景粘膜では、p14ARFの機能異常が発癌に促進的な作用を及ぼしている可能性が考えられます（図6）。

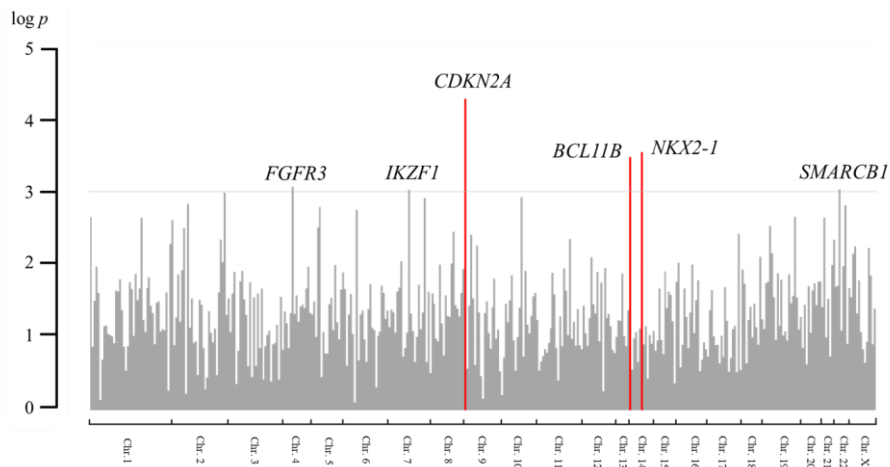


図3 各遺伝子バリエント頻度の差

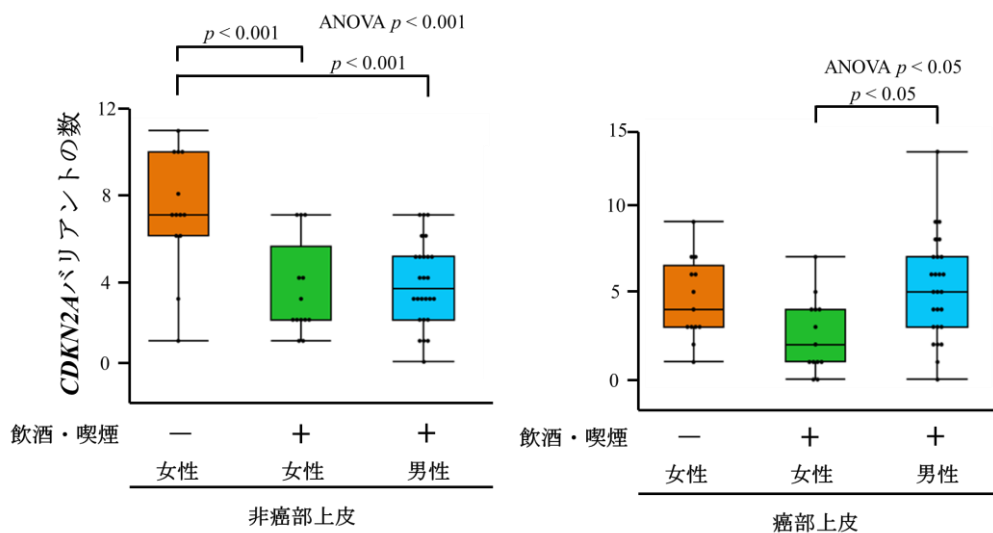


図4 リスク因子別非癌部上皮、癌部上皮のCDKN2Aバリエント頻度の差

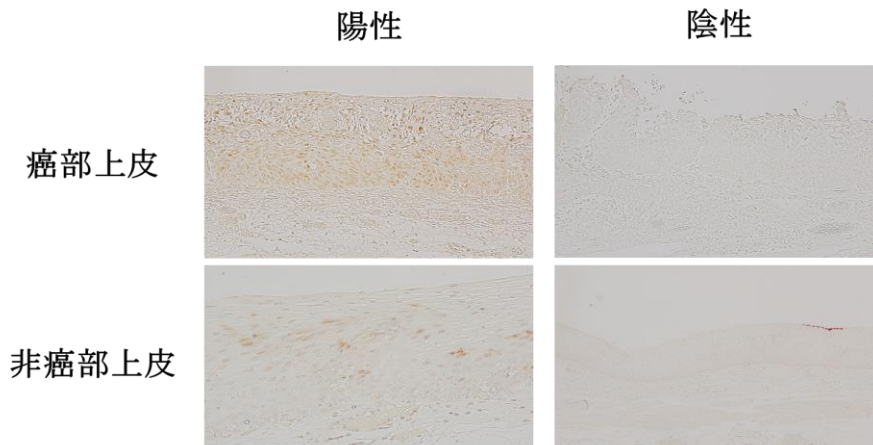


図 5 p14ARF の免疫組織化学染色像

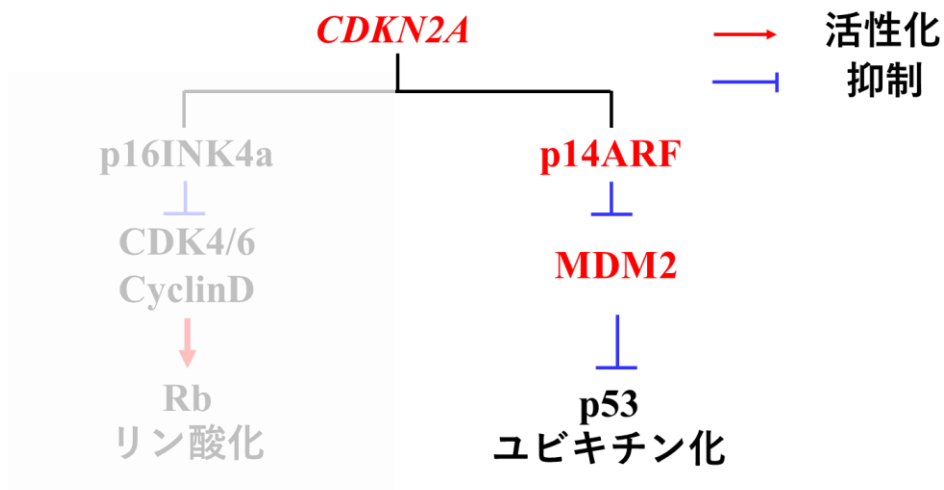


図 6 低リスク女性 ESCC の発癌経路

●今後の展開

背景因子の異なる ESCC の発癌分子機序の解明し、個々人のリスクに応じた ESCC の早期診断マーカーや治療標的を同定します。このことにより ESCC を征圧する戦略を構築する分子基盤を創出したいと考えています。

【用語説明】

- (注 1) *CDKN2A* 遺伝子： *cyclin-dependent kinase inhibitor 2A*。 *CDKN2A* 遺伝子は 9p21 の位置する遺伝子で、選択的スプライシングにより細胞周期制御に関与する p16INK4A と p14ARF の 2 つのタンパクを生成する。
- (注 2) p14ARF： p14 alternate reading frame。
- (注 3) バリエント： 遺伝子変化の多様性
- (注 4) *p* 値： 観察された事象の差はないと仮定したときに、その仮説から外れた事象が起

この確率の実現値。今回の研究では有意水準は 5%未満とし、 p 値がそれ以下の場合に、観察された事象について統計学的に有意な差があると判定しました。このことは、100 回同じ実験を行って観察された事象と同じ差がでるのは 5 回未満であることを意味します。

(注 5) IQR : Interquartile range。四分位範囲。散らばりの程度を表す尺度の一つ。

(注 6) p16INK4A : p16 inhibitor of cyclin-dependent kinase 4A。

(注 7) Rb : Retinoblastoma。

(注 8) リン酸化 : タンパク質にリン酸基を付加する化学反応。タンパク質の構造を変化させ、機能を調節する役割がある。

(注 9) MDM2 : murine double minute 2。

(注 10) p53 : tumor protein 53。

(注 11) ユビキチン化 : ユビキチンがタンパク質に結合すること。このユビキチン修飾がタンパク質分解などに関わっている。

【論文情報】

掲載誌 : *Scientific Reports* 11, 20150 (2021)

論文タイトル : Novel genomic alteration in superficial esophageal squamous cell neoplasias in non-smoker non-drinker females

著書 : Yusuke Onozato, Yu Sasaki, Yasuhiko Abe, Hidenori Sato, Makoto Yagi, Naoko Mizumoto, Takashi Kon, Takayuki Sakai, Minami Ito, Matsuki Umehara, Ayumi Koseki, Yoshiyuki Ueno

DOI : 10.1038/s41598-021-99790-z

【研究について】

担当 : 山形大学医学部 内科学第二 (消化器内科学) 講座

小野里 祐介 (おのざと ゆうすけ)

TEL : 023-628-5309

FAX : 023-628-5311

e-mail: y-onozato@med.id.yamagata-u.ac.jp

【山形大学医学部広報担当】

担当 : 山形大学医学部総務課庶務担当 (秘書室)

TEL : 023-628-5872

FAX : 023-628-5018

e-mail: yu-isokoho@jm.kj.yamagata-u.ac.jp