京都大学	博士（　　医学）	氏　名	横　山　顕　礼
論文題目	Age-related remodelling of oesophageal epithelia by mutated cancer drivers 加齢に伴う食道上皮のがんドライバー変異によるリモデリング		

（論文内容の要旨）

近年、正常組織において加齢に伴うクローン拡大と発がんの関係が示唆されているが、がんの発症に先立って、クローン拡大が、いつ獲得され、どのように進行するのか、またその過程で発がんリスク因子がどのように影響を及ぼすかについては未だ知見に乏しい。このことを調べるために、139 人の担癌患者ないし健常人から得られた 682 個の食道上皮検体についてゲノム解析を行った。

はじめに、1 例の食道がん手術標本（50 才代、愛煙家）から、等間隔に食道全体から正常上皮 25 か所を 5mm^{2}で採取し、全エクソン解析を行った。1 サンプルを除いた 24 サンプルで遺伝子変異を認められたため、一見正常に見える食道上皮も、食道全体にわたって小さなクローン拡大が存在することが確認された。次に、上部内視鏡検査を受ける患者から、通常の生検で採取し、上皮を単離した後に、4mm^2、0.8mm^2、または、0.2mm^{2}のサイズに揃えて DNA 抽出し、得られた正常上皮（n=157）の DNA から全エクソン解析した。担癌例では、全てのサンプルで遺伝子変異を認め、非担癌例でも 93%で遺伝子変異が認められた。さらに、サイズに関わらず、飲酒・喫煙歴を有さないリスク因子のない群では、検出される遺伝子変異の数は、被検者の年齢とともに増加し、さらに、高度の飲酒・喫煙歴のある被検者から採取された試料では、有意に変異数が増加していた。また、それぞれの試料の中で、アレル頻度も加齢とともに増加していた。正常上皮と外部コホートも含めたがん部（n=519）から、正常食道および食道がんで認められる変異は、Sig. A-D の 4 つのパターンの変異様式に分類されることがわかった。このうち、Sig. A は APOBEC と呼ばれる酵素の作用によって生じている変異で、がんの試料にほぼ特異的に認められることからがん化との密接な関連が示唆された。一方、Sig. D はこれまで飲酒との関連が指摘されてきた変異様式で、高度の飲酒歴を有する被験者の正常食道上皮で有意に増加していることから、アルコールの摂取によって食道上皮の変異が誘発されていることが示唆された。さらに 24 の遺伝子がドライバー変異の標的となる遺伝子として抽出された。この中で *TP53* 変異はがん部で 80%に、正常部では 30%で認められたが、*NOTCH1* 変異は、がん部では 15%でしか認められないが、正常上皮では 66%に認められた。正常上皮で頻度が多く認められるドライバー変異は、*NOTCH1* 以外にも 6 遺伝子が該当し、血液のように、加齢とともに蓄積したクローン拡大がそのまま、がんの基盤となるわけではなく、正常上皮とがんのクローン性増殖では、両者におけるクローン性増殖のメカニズムは完全に同一ではなく、それぞれに固有のメカニズムの存在も示唆された。また、ドライバー変異についても、被検者の年齢とともに増加し、さらに、リスク因子のある被検者から採取された試料では、有意に変異数が増加していた。正常食道において、個々のクローンがどの程度の領域に拡大しているかを検討する目的で、内視鏡生検 16 組織から、341 個の近接した 0.2mm^{2}で採取し、ゲノム解析を行った。多くの例で、最初のドライバー変異は思春期の後期までにすでに獲得されており、このようなクローンの拡大は、若年者では極めて限定的だが、加齢とともに食道全体に拡大し、60 歳以上の高齢者では、食道全体の 40～80%が、ドライバー変異を有するクローンによって再構築されていた。このクローン拡大の過程は高度の喫煙や飲酒といった生活習慣リスクによって大きく影響され、こうした生活習慣リスクを持つ人では、クローンの数が増大するとともに、*TP53* 変異など、リスクのない人の食道上皮とは異なるドライバー変異を有するクローンの拡大が生じていた。

（論文審査の結果の要旨）

正常組織において加齢に伴うクローン拡大が、がん発生に関係していることは既に知られている。しかし、がん化する前に、クローン拡大が、いつ獲得され、どのように進行するのか、またその過程で発がんリスク因子がどのように影響を及ぼすのかは解明されていない。今回 682 サンプルの微小な食道上皮試料を用いてゲノム解析を行い、正常食道上皮では、*NOTCH1* 変異を主体とするドライバー変異を獲得したクローンが加齢とともに拡大し、そのクローン拡大は過度の飲酒や喫煙により促進することを明らかにした。ドライバー変異を獲得したクローンは多中心性に年少期のうちに出現しており、これに引き続いて複数のドライバー変異を獲得してクローン拡大が生じ、加齢とともにその数やサイズが増加し、高齢者では正常食道の大半がドライバー変異を有するクローンに置き換わっていることを明らかにした。ドライバー変異を獲得したクローンによる食道上皮の再構築は加齢による不可避な変化であり、過度の飲酒・喫煙により促進されると考えられる。

以上の研究は、がんの初期発生過程の解明に貢献し、がんが高齢者で多発し過度の喫煙や飲酒といった発がんリスクにより食道がんの発生が増加するメカニズムの解明に寄与するところが多い。　　したがって、本論文は博士（　医学　）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和 1 年　6 月　28 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日：　　年　　月　　日　以降