

論文の内容の要旨

論文題目 EB ウイルス関連胃癌の臨床的・病理学的検討

指導教官 深山正久教授

東京大学大学院医学系研究科
平成9年4月入学
医学博士課程
病因・病理学専攻
学生証番号 77340
柴原純二

1. はじめに

Epstein-Barr virus (EBV) と胃癌の関係が最初に注目されたのは、リンパ球浸潤性間質を持つ低分化腺癌 (poorly differentiated adenocarcinoma with lymphoid stroma)、あるいはリンパ上皮腫類似癌 (lympho-epithelioma like carcinoma) と呼ばれる特殊な胃癌の大部分に、EBV 感染が判明したことからである。

当初、EBV 感染の検出には polymerase chain reaction (PCR) 法や DNA in situ hybridization (ISH) が用いられていたが、EBV 感染細胞 1 細胞あたり $10^5 \sim 10^7$ 個存在する特異な RNA (EBV encoded small RNA:EBER) を標的とした高感度な ISH が開発され、現在では、EBER-ISH で陽性像を呈する胃癌を EBV 関連胃癌とするのが一般的である。

EBV 関連胃癌に地域特異性は見られず、我が国では、胃癌の 10% 弱の頻度で認められる。その特徴として比較的若年者、男性優位な発症傾向があり、噴門～胃体部に好発、組織学的には tub2、por1 の組織像を呈することが多く、通常は腫瘍間質に比較的強いリンパ球浸潤を伴うとされる。EBER は、ほとんど全ての胃癌細胞に検出されるが、周囲の非腫瘍粘膜および間質の浸潤リンパ球にはほとんど検出されない。

EBV 関連腫瘍に見られる間質浸潤リンパ球の主体は、CD8 陽性の細胞傷害性 T 細胞 (CTL) であることが明らかにされているが、浸潤が腫瘍の進展に果

たす意義については、十分な検討はなされていない。本研究では、間質への浸潤細胞の免疫組織学的性質の詳細を明らかにした上で、予後と密接に関与する腫瘍の進行度 (stage) に注目し、炎症細胞の浸潤が腫瘍の進行に果たす役割を検討した。

また腫瘍が CTL の攻撃を回避する機構については、胃癌細胞中で発現されている限られた EBV 関連遺伝子の中で、EBNA1 (EBV determined nuclear antigen 1) には免疫原性が認められるが、この抗原が CTL エピトープになり得ないため CTL による認識を免れるという事実により説明されている。しかし、これにより十分説明しきれない事実も提示されている。CTL 攻撃の結果もたらされるアポトーシスに拮抗する機序が腫瘍細胞に内在する可能性も考慮される必要がある。

本研究では、EBV 関連胃癌におけるアポトーシス関連因子の発現の特殊性を明らかにすることを目的に、深山らが最近樹立に成功した SCID マウス移植胃癌細胞株を用いた gene chip 法、Northern blot 法、Western blot 法、さらに胃癌手術材料を用いた免疫組織化学的手法により、EBV 関連胃癌におけるアポトーシス関連因子の発現の検討を行った。

2. 結果と考察

A. EBV 関連胃癌の頻度と臨床・病理学的特徴についての結果と考察

1990 年から 1997 年に東京大学医学部付属病院で、外科切除された胃癌の EBV 陽性率は 5.5% (50 病変 / 911 病変) で、徳永 (6.7%、120 陽性病変 / 1795 病変)、今井 (7.0%、70 陽性病変 / 1000 病変) らによる従来の我が国の報告と比較するとやや低率の結果であったが、有意な差ではなかった。

若年者、男性に多く、噴門部から胃体部で好発し、低分化腺癌、中分化腺癌を主体とする組織像を呈することはいずれも既知の知見と矛盾しない結果であった。

リンパ節転移は EBV 陽性胃癌で少ない傾向があり、EBV 陽性の早期癌ではリンパ節転移は認められなかった。このような結果は、これまでも一部の報告で示されているが、治療法の選択、リンパ節廓清の適用などにあたり、EBV 感染の有無が臨床的意義を有することを示唆する結果であった。

B. EBV 関連胃癌の間質浸潤細胞の性状とその意義についての結果と考察

EBV 陽性胃癌で見られる間質浸潤細胞の主体は CD8 陽性 T 細胞であり、その中に細胞障害性分子 (TIA-1, Granzyme B) を発現するのものが多く含まれていた。

これまで、このような間質の浸潤リンパ球の果たす意義については、検討されたことはなかった。今回の検討では、リンパ球浸潤は粘膜内の癌で既に誘導されており、腫瘍の深達度 (T 因子) とリンパ球浸潤密度の間に有意な関係は見られなかったが、進行癌における検討でリンパ節転移 (N 因子) 陽性例では有意に浸潤密度が低かった。進行度 (stage) との関連でも、stage I/II 症例では、

stage III/IV に比し、有意に浸潤が高密度であった。

逆にリンパ球浸潤の高密度群は、リンパ節転移が低率で、転移陽性例でも 1 群リンパ節にとどまるものが多く、臨床病期は I/II 期のものが多い結果となった。

すなわち、間質に高密度の炎症細胞浸潤を誘導することが、腫瘍の進行の抑止力となる可能性を示す結果であった。

腫瘍に対する強い炎症性反応が、いかなる機構で腫瘍の転移を抑制するのかは現時点では不明である。高密度のリンパ球の存在による物理的な障壁、Th1 タイプのサイトカインの腫瘍細胞に対する直接的作用、あるいは間質形成の特殊性などが関係していると考えられる。また、転移先のリンパ節での腫瘍細胞の排除機構も考慮されなければならず、今後の検討の課題である。

細胞障害性 T 細胞 (cytotoxic T lymphocyte: CTL) による直接作用、すなわち腫瘍細胞に対するアポトーシス誘導効果は最も考慮されなければならない点であるが、手術材料を用いた今回の検討では、EBV 陽性胃癌では陰性胃癌と比較して腫瘍細胞のアポトーシスが低率であった。

C. EBV 関連胃癌とアポトーシスに関する結果と考察

間質に活性化された CTL の浸潤が高密度に見られることと、腫瘍細胞に見られる低率のアポトーシスは相反する事実のように思われる。

EBV 関連胃癌の抗アポトーシス機構の特殊性を明らかにすることを目的に、SCID マウス移植胃癌細胞株を用いた gene chip 法による網羅的な発現解析を行った結果、抗アポトーシス作用を有する遺伝子のうち、cIAP2 (cellular Inhibitor of Apoptosis Protein 2) の発現の亢進が EBV 陽性細胞株で認められた。cIAP2 mRNA の発現の亢進は Northern blot 法で確認され、さらに Western blot 法により蛋白の発現亢進も確認された。

cIAP2 は IAP family protein の一つである。現在までにヒトでは、NAIP、cIAP1、c-IAP2、XIAP、survivin の 5 種の IAP family 遺伝子が知られている。アポトーシスと腫瘍の関係がますます重要視される中、caspase に対する内因性の阻害物質として、IAP の腫瘍における発現の意義が最近認識され始めている。survivin の発現は多くの腫瘍で明らかにされており、その高発現症例は予後が悪いことが知られている。cIAP1、cIAP2、XIAP と腫瘍の関連については、培養細胞株での検討を中心に未だ少数の報告が見られるのみである。

cIAP2 の転写制御因子として現在唯一知られているのは NF- κ B である。今回の検討の中で EBV 陽性細胞株で有意に高発現していた、cIAP2 以外の抗アポトーシス関連遺伝子 DAD-1、MnSOD がいずれも NF- κ B による転写制御を受けるという事実は興味深いことである。

NF- κ B と EBV の関連については、LMP1 が NF- κ B を活性化する事実は従来より知られていた。latency I と呼ばれる LMP1 の発現のない潜在感染にある胃癌細胞中の EBV が、同様に NF- κ B の活性化を誘導するか否かは今後の検

討の課題である。

もう一つの代表的なアポトーシス関連蛋白であり、胃癌同様に latency I の潜在感染にある Burkitt リンパ腫で、EBV による発現誘導が指摘されている bcl-2 family に関しては、SCID マウスを用いた gene chip 法による網羅的発現解析と Western blot 法、あるいは手術材料を用いた免疫組織学的な検討のいずれにおいても、bcl-2 およびその関連遺伝子の高発現は確認されなかった。

3. 結語

胃癌の EBV 陽性率、EBV 陽性胃癌の臨床的・病理組織学的特徴は従来の報告とほぼ矛盾しない結果であった。その中で、EBV 関連胃癌ではリンパ節転移が低率な傾向にあり、早期癌では転移が認められないという結果が得られた。治療法の選択、リンパ節廓清の適応にあたり EBV 感染の有無が臨床的に意義を有する結果であると考えられた。

EBV 関連胃癌において従来より知られていた間質へのリンパ球の誘導が、腫瘍進行の抑止力となる可能性が示された。すなわち、間質に高密度のリンパ球浸潤が誘導された腫瘍群は、リンパ節転移が低率で、腫瘍の進行度が stage I/II にとどまるものが有意に多い結果であった。

一方で、間質に高密度の活性化された細胞障害性 T 細胞の浸潤を伴いながら、EBV 関連胃癌ではアポトーシスが低率であることを示した。このことに関連して、SCID マウス移植 EBV 関連胃癌細胞株で抗アポトーシス作用の知られた cIAP2 が高発現していることを明らかにした。latency I 状態にある EBV による発現誘導が一部で指摘されている bcl-2 については、同細胞株でも、手術材料を用いた検討でも高発現は確認されなかった。