

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 湯浅 啓史

ヒト胃の悪性疾患の病態解明の一助とすべく、ラットの N-methyl-N-nitro- N'-nitrosoguanidine 誘発および X線誘発異胃癌モデルを用いて胃の上皮の形質変化について検討した。得られた結果は下記の通りである。

(1) 作製したラット腸型アルカリホスファターゼ (I-ALP) に対する抗体は、正常動物では、小腸の刷子縁および腎臓の近位尿細管と強く、大腸近位部と非常に弱く反応した。また、胃発がん系により処置したラットでは、胃の腸上皮化生および腺癌ならびに小腸の高分化型腺癌細胞の刷子縁に強い反応が認められた。したがって、作製した抗体は、ラット小腸の吸収上皮を特異的に同定することが示された。胃の腸上皮化生および高分化型腺癌で I-ALP が存在することは、腫瘍細胞が起源組織の形質以外の形質を獲得するという面で興味深い事象である。

(2) 正常ラットおよび胃発がんラットについて、組織化学および免疫組織化学的にカテプシン E の局在性を調べた。その結果、カテプシン E は正常ラットの胃の被覆上皮、副細胞および幽門腺細胞に局在し、小腸粘膜では認められなかった。胃発がんラットでは、胃の腸上皮化生部で反応は消失したが、小腸の再生性病変部では弱い反応が認められた。高分化型腺癌のうち、胃の形質を示す腫瘍細胞ではカテプシン E の存在が認められたが、小腸の形質を有する腫瘍細胞ではカテプシン E の存在は認められなかった。したがって、カテプシン E は胃上皮の特異的指標となり得ることが明らかになるとともに、胃での腸型形質発現により消失することが示された。

(3) 胃発がんラットでは、ヒト胃がんとは異なり高分化型胃がんでも胃型形質が主体を占めることが多い。この様なラットの胃がん組織の形質と細胞増殖率について検討した。その結果、胃がん組織は胃型と腸型の増殖単位に区分でき、同一の腫瘍内に存在するそれぞれの増殖単位の細胞増殖率を比較した場合、腸型の増殖単位が常に高い値を示した。これらのことから、胃型として発生した胃がん組織が時間経過とともに腸型の形質を獲得して、腫瘍進展に伴い腸型組織が優勢になることを示唆された。

(4) X線照射により誘発したラット胃の腸上皮化生の形質と数的推移を経時的に検討した。また照射8週間後における腸上皮化生部の *K-ras*、*H-ras* および *p53* の変異を PCR-SSCP 法により検索した。その結果、胃粘膜はX線照射直後に再生性の変化を示し、腸上皮化生腺管の総数は一時的に増加したが、照射8週間後では化生腺管数は減少し、その後77週にかけて徐々に再び増加した。再生性の粘膜では胃腸混合型の孤立した化生腺管が主体であったが、照射24週間以降は腸単独型化生腺管が集合した化生腺管巣が増加した。化生腺管より抽出した遺伝子に変異は認められなかった。以上の結果から、ラットの胃の腸上皮化生と *K-ras*、*H-ras* あるいは *p53* 遺伝子の変異は独立した事象であることが示唆され、また、腸上皮化生はX線照射を中止しても発生し続け、その増数は、腸単独型化生腺管を主体とする化生腺管巣の形成であることが示された。

本研究により、胃の悪性疾患における腸型形質の発現は様々な病態に付随して発生する二次的な形質転換であり、その発現は周囲環境の影響を受けている可能性が示唆された。この成果はヒト胃がんの発現機序を考える上で興味深く、重要な知見である。よって審査委員一同は本論文が博士（獣医学）の学位を授与するに値するものと認めた。