

論文の内容の要旨

論文題目 Epstein-Barr Virus 関連胃癌における DNA メチル化異常について

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 12 年 4 月入学

医学博士課程

病因病理学専攻

氏名 牛久哲男

Epstein-Barr Virus(EBV)関連胃癌は胃癌全体の 5~18%を占め、臨床病理学的に通常の胃癌とは異なる特徴を示す。EBV 関連胃癌では、ほとんどすべての腫瘍細胞にモノクローナルな EBV 感染が認められ、本腫瘍の発生には EBV の関与が強く疑われている。EBV 関連胃癌では非関連胃癌で見られるような *p53* 等の遺伝子変異や LOH といった遺伝子異常が少なく、非関連胃癌とは異なった発癌機構が存在すると考えられる。

近年、多くの悪性腫瘍で、DNA のメチル化異常が報告されており、癌関連遺伝子のプロモーター領域のメチル化による発現抑制が、腫瘍発生に重要な役割を果たしていると考えられている。EBV 関連胃癌では、非関連胃癌とは発現の異なる遺伝子があるにもかかわらず、遺伝子そのもの変化は乏しいことから、ジェネティックな変化よりもエピジェネティックな変化が関与している可能性

が推定される。

本研究では EBV 関連胃癌における DNA メチル化異常を調べるために、代表的な癌関連遺伝子である、*p14*、*p15*、*p16*、*MGMT*、*DAPK*、*TIMP3*、*GSTP1*、*h-MLH1*、*p73* 遺伝子について、EBV 関連胃癌 17 例、非関連 45 例を用いてプロモーターのメチル化異常の検討を行った。その結果、*p73* 遺伝子プロモーターのメチル化は EBV 関連胃癌で 1 例を除くすべての例(94.1%)で見られたのに対し、非関連胃癌では 2 例(5.3%)で見られたのみであった。*p14*、*p15*、*p16* においても EBV 関連胃癌の 80%以上の症例でプロモーターのメチル化が認められ、非関連胃癌と比べ有意に高頻度であった。*GSTP1*、*TIMP-3*、及び *DAPK* 遺伝子プロモーターにおいても、EBV 関連胃癌で有意に高頻度なメチル化が認められた。これに対し、*MGMT*、*h-MLH1* プロモーターでは EBV 関連、非関連胃癌でメチル化の頻度に差がみられなかった。*p73* については免疫組織化学的に蛋白の発現を検討し、メチル化症例では *p73* 蛋白発現が抑制されていることが確認された。以上の結果から、EBV 関連胃癌では、癌関連遺伝子プロモーターのメチル化異常が高頻度に見られることが示され、本腫瘍の発生に強く関与していると考えられた。

また、これらの症例に対して *p53* 免疫染色を行った結果、従来 of 報告通り、EBV 関連胃癌では非関連胃癌と比較し、*p53* 遺伝子変異は少ないが、正常 *p53* 蛋白の過剰発現が多く見られることが示唆された。*p53* 蛋白は *p73* 蛋白の機能を補完し、また共通した制御機構の存在も知られており、EBV 関連胃癌では *p73* 遺伝子発現が抑制されていることが *p53* 蛋白過剰発現に関係している可能性が考えられた。

次に、こういったメチル化異常が腫瘍の発生、進展のどの時期に生じる現象であるかを検討するため、径 3cm 以下の早期胃癌、及びその周囲粘膜における

メチル化異常について調べた。対象は EBV 関連胃癌 20 例、非関連胃癌 20 例を用い、*p14*、*p16*、*p73*、*h-MLH1* 遺伝子プロモーターについてメチル化異常を検討した。また周囲粘膜については、慢性炎症の程度について Updated Sydney system に準じた組織学的評価を行い、腫瘍の発生母地となった粘膜の性状について調べた。この結果、早期の胃癌においても、先の検討とほぼ同様の頻度のメチル化異常が各遺伝子プロモーターで認められた。すなわち、*p14*、*p16*、*p73* 遺伝子プロモーターのメチル化は EBV 関連胃癌で非関連胃癌に比し有意に高頻度であったが、*h-MLH1* 遺伝子では差はなかった。また周囲粘膜に関しては、EBV 関連、非関連胃癌ともに、各遺伝子プロモーターでメチル化の頻度は低く、差は認めなかった。慢性炎症の評価では、単核細胞浸潤、萎縮、腸上皮化生、好中球浸潤に関して、EBV 関連胃癌が非関連胃癌よりも有意に程度が高い結果となったが、慢性炎症の程度と癌関連遺伝子プロモーターのメチル化との関連は認められなかった。

本研究の結果から、EBV 関連胃癌では複数の癌関連遺伝子プロモーターのメチル化異常が高頻度に起きていることが示され、本腫瘍の発生に重要な役割を果たしていると考えられた。さらに、こういったメチル化異常が発癌の早期から見られる現象であることが示され、また癌の発生母地としての周囲粘膜の検討においては、非関連胃癌の周囲粘膜とメチル化の頻度に差がないことから、EBV 関連胃癌はメチル化異常をもつ粘膜から発生するのではなく、EBV 感染によりメチル化異常が引き起こされ、発生する可能性が高いと考えられた。

本研究結果から示唆される EBV 関連胃癌の発生様式としては、1. 慢性萎縮性胃炎を特徴とした粘膜の上皮細胞に EBV 感染が成立、2. これを契機に上皮細胞の DNA のメチル化異常が生じる、3. この際に *p73* をはじめとした癌抑制遺伝子プロモーターがメチル化異常に巻き込まれ、その発現が抑制されるこ

とにより上皮細胞が **growth advantage** を獲得し癌化する、といった機序が想定された。しかし、EBV の上皮細胞への感染機構、EBV 感染により生じられると思われる宿主 DNA のメチル化異常の機序、メチル化異常は実際にはゲノム中でどの程度生じており、どの程度癌化に寄与しているかといったことは十分わかっておらず、今後はより詳細な検討、及び網羅的な解析が必要と考えられた。

EBV 関連胃癌は、ウイルス感染、DNA メチル化異常、発癌という重要なテーマを含む腫瘍であり、その発生機序の解明は本腫瘍の治療法につながるのみならず、多くのウイルス関連、及びメチル化関連腫瘍の解明の大きな鍵となる可能性があり、今後もさらなる検討が必要と考えられた。