

## 審査の結果の要旨

氏名 日野るみ

本研究は、胃癌の中では現在原因が明確になっている唯一の癌、EB ウイルス関連胃癌を対象として、モデルの作成と EB ウイルスの胃癌における役割の解明に取り組んだ研究である。ヒト胃癌細胞株に薬剤耐性遺伝子組み込み EB ウイルスを感染させ、細胞生物学的な変化、発現プロファイルの変化を照応させ、EB ウイルスによって引き起こされる胃癌細胞への変化を解析し、下記の結果を得ている。

1. 6 種類の EB ウイルス持続感染細胞株と元細胞株を生物学的に比較検討 (MTT 法、TUNEL 法、Wounding assay、Invasion assay) した結果、serum deprivation 条件下で、EB ウイルス持続感染細胞株が元の細胞株に対して、増殖能、移動能が亢進し、アポトーシス抵抗性を生じていることを明らかにした。
2. 生物学的検討で得られた結果の中でも、特に EB ウイルス感染による胃癌細胞のアポトーシス抵抗性の獲得に注目し、網羅的遺伝子発現解析により、EB ウイルス感染によって有意差を生じるアポトーシス関連遺伝子発現の解析を行った。その結果、FCS0%条件下 96 時間培養後、EB ウイルス持続感染細胞は元細胞 (MKN-1) と比較して、アポトーシス抵抗性の役割を有する IAP (Inhibitor of apoptosis protein) ファミリーの中の survivin という遺伝子の発現が有意に多い事が明らかになった。Real time quantitative RT-PCR にてその survivin の有意差の再現性は確認された。
3. Serum deprivation 条件下 EB ウイルス持続感染細胞 (MKN-1) において有意に発現の多かった survivin について、アポトーシスとの関連を確認する為、siRNA で survivin を抑制した時のアポトーシスの状態を検討した。その結果、survivin が抑制された EB ウイルス持続感染細胞において、TUNEL 陽性細胞 (アポトーシスに陥った細胞) の数が格段に増加し、ほとんど元細胞株と同じような

状態にまでなった。この結果は、survivin とアポトーシスの関係を明らかにしただけでなく、EB ウイルス持続感染胃癌細胞株において survivin は抗アポトーシス作用の中心的役割を果たしているということも示した。さらにこのことは、survivin の発現が高値である EB ウイルス関連胃癌に survivin を標的とした治療の可能性を示した。

4. EB ウイルス側の survivin 発現に関連する責任遺伝子の同定のために、各 EB ウイルス遺伝子を組み込んだ plasmid を作成し、細胞に transfection 後 survivin の発現を検討した。

その結果、検討した EB ウイルス潜伏感染 type I に関連した 3 つの遺伝子、EBNA1, BARF0, EBER1 では、survivin の発現との明らかな関連はみられなかった。

5. 手術症例(117 例)での survivin の免疫組織化学的検討では、77.8%の EB ウイルス関連胃癌に survivin の発現が認められた。進行癌に関しては、EB ウイルス陰性胃癌に比べて、EB ウイルス関連胃癌は、survivin 陽性率が有意に高いという結果( $P=0.0307$ )を得た。この結果から、EB ウイルス関連胃癌の進行または悪性化に survivin の発現が関連していることが予想された。

以上、本論文は EB ウイルス感染による胃癌細胞のアポトーシス抵抗性の獲得を示し、その機序に survivin が重要な役割を果たしていることを示した。また、手術材料を用いた検討から、EB ウイルス関連胃癌の進行または悪性化に survivin が関与している可能性、さらに、survivin を標的とした治療の可能性を示した。本研究は EB ウイルス関連胃癌における EB ウイルスの役割の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。