

審査の結果の要旨

氏名 バルア リタ ラニ

胃がんは全世界で主要ながん死因の一つである。中国、南米、日本、バングラデシュではよく見かけるがんである。胃がんの約 10% に Epstein-Barr virus (EBV) 感染があるが、この EBV 関連胃がんは世界中で一様に分布している。EBV 関連胃がんはヒトのウイルス発がんの一つのモデルと考えられる。そのため、EBV 関連胃がんの組織発生や高リスク群の研究は重要である。本研究の結果を以下に記載する。

1. 胃がんにおける MUC2, MUC5AC, MUC6, CD10 の表現型 : EBV 関連胃がん 18 例、EBV 陰性胃がん 56 例を免疫組織化学的手法にて検索した。胃上皮形質のマーカーとして MUC5AC と MUC6、腸上皮形質のマーカーとして MUC2, CD10 を検索した。これらによって、4 つの形質群に分類した (null, 胃型、腸型、混合型)。EBV 関連胃がんは null 型が 44%、胃型が 39% と、この 2 型で大半を占めた。一方、EBV 陰性胃がんは null 7%、胃型 30%、腸型 27%、混合型 36% という分布であった。Null 型の割合は EBV 関連胃がんでは有意に高かった。進行がん、早期がんにも細分化しても、がんの発生部位で分けても、null 型が EBV 関連胃がんが多い傾向は一致していた。
2. MUC2 と MUC5AC の DNA メチル化状態の検索 : 21 例の胃がん手術例 (3 例が EBV 関連胃がん、18 例は EBV 陰性胃がん) と 6 種の胃がん細胞株 (MKN7, MKN74, NU-GC-3, AGS, TMK1, MKN1) について検索した。メチル化感受性制限酵素 *HpaII* で消化後に PCR で増幅した。手術例ではすべての症例で MUC2, MUC5AC とともに DNA メチル化状態であった。細胞株では MUC2 は 6 種中 5 種 (MKN74,

TMK1, AGS, MKN1, MKN7) では組み替え EBV 感染の前後で、メチル化の状態に変化は無かった。NU-GC-3 では組み替え EBV の感染後に非メチル化状態からメチル化状態に変化した。MUC5AC では3つの細胞株 (TMK1, MKN1, NU-GC-3) で組み替え EBV の感染後に非メチル化状態からメチル化状態に変化した。これらの DNA メチル化状態の変化に、免疫組織化学的な染色態度の変化は伴わなかった。

3. 分化に関連する転写因子とサイトケラチンの発現：2つの転写因子 (Sox2 と Cdx2) とサイトケラチン (CK7/8/18/19/20) について検索した。260 例の胃癌症例について、tissue array を作成して、免疫組織化学的に検討した。32 例が EBV 関連胃癌、228 例が EBV 陰性胃癌であった。1 と同様に胃上皮マーカー、腸上皮マーカーを利用して、4 群に分けた。EBV 関連胃癌では Null 型と胃型形質を示す腫瘍が有意に多かった。胃型上皮の転写因子である Sox2 は EBV 関連胃癌では高率に陽性 (75%) であったが、腸型転写因子である Cdx2 は EBV 関連胃癌では陽性率が低かった。Sox2 の陽性像は粘液形質とは関連しなかった。Cdx2 は腸型、混合型と密接な関連があった。また、Sox2 は他の分子と関連はなかったが、Cdx2 は MUC2 と CK7 との関連が見られた。

4. *IL10* と *TNF α* 遺伝子多型：22 例の EBV 関連胃癌と 108 例の EBV 院生胃癌、103 例の健常者血液を利用した。IL10-1082、IL10-819, *TNF α* -308, *TNF α* -238 の4箇所について PCR 後に制限酵素で切断することによって検索した (RFLP 法)。健常者では他の日本での報告と比べて、優位な隔たりはなかった。IL10-1082*A と IL10-819*T は白人に比べると日本人に多かった。他のアジア人や白人と比べると、*TNF α* -308*A は日本人で少なかった。IL10 遺伝子の多型と胃癌の関連は日本人では無かった。*TNF α* -308*A は体上部発生の EBV 陰性胃癌で多かった。*Helicobacter*

pylori 感染との関連では、TNFa-238*GA/AA と比べると TNFa-238*GG が *Pylori* 菌感染例で多かった。

以上の結果から、EBV 関連胃がんは2種の形質、null型と胃型を示すことが多いこと、Sox2を高率に発現し、Cdx2の発現は少ないことが分かった。これらから、EBV 関連胃がんは胃上皮幹細胞に近い細胞から発生し、腸上皮への分化がまれであることが分かった。組み換え EBV の感染では3種の細胞株 (TMK1, MKN1, NU-GC-3) で MUC5AC のプロモータ域のメチル化亢進を引き起こすことが分かった。この実験は EBV が宿主細胞のゲノム DNA メチル化を亢進することを説明する。IL10 と TNFa の遺伝子多型では EBV 関連胃がんの発生との関連は明らかにならなかったが、TNFa-308*A と TNFa-238*G はピロリ菌による強い慢性炎症と発がんをより関連づけると考えられた。