

[課程-2]

審査の結果の要旨

氏名 阿部 浩幸

本研究では、EBV 関連胃癌において高頻度に遺伝子変異・発現消失が報告されているクロマチンリモデリング因子 ARID1A について、その意義を手術材料の免疫組織化学を中心とした方法により解析した。また、EB ウイルス由来 microRNA について、その発現と exosome を介した細胞外分泌に着目して検討を加えた。そして下記の結果を得ている。

1. 胃癌手術材料の免疫組織化学による臨床病理学的解析により、ARID1A 発現消失は EBV 関連胃癌及び MLH1 陰性胃癌で、その他の胃癌と比較し高頻度に認められた。ARID1A の発現消失例は、EBV 陰性かつ MLH1 発現の保たれた胃癌では進行癌に多く予後不良であったのに対し、EBV 関連胃癌では相関を認めなかった。

2. EBV 関連胃癌では ARID1A の発現消失を早期癌・進行癌ともほぼ同頻度で認め、発現の消失は腫瘍内で均一・びまん性であった。粘膜内の EBV 陽性の微小な病変の段階でも ARID1A の発現消失を認める症例があった。そのため、EBV 関連胃癌では ARID1A の発現消失が発癌過程の早期に生じると考えられた。一方、EBV 陽性の胃癌以外の悪性腫瘍(鼻咽頭癌と悪性リンパ腫)では ARID1A 発現消失を認めず、また胃癌細胞株に人工的に EBV を感染させて樹立した株においても ARID1A の発現低下は生じなかった。つまり、EBV 感染により ARID1A の発現消失が引き起こされるわけではないと考えられた。これらのことから、ARID1A 発現消失は発癌初期に EBV 感染に先行して生じることが示唆された。

3. EBV 関連胃癌由来細胞株 SNU719 及びマウス xenograft である KT を用いた検討により、EBV 関連胃癌細胞株ではウイルス由来 microRNA のうち BART7 が最も高発現し、培養液 exosome 中及びマウス血清中にも豊富に分泌されることを示した。ヒトの EBV 関連胃癌患者血清についても BART7 の検出を試みたが、検出感度以下であり、腫瘍の大きさが小さかったことが原因と考えられた。

4. EBV 陰性胃癌細胞株及び同じ株に人工的に EBV を感染させて樹立した細胞株の、蛍光免疫染色及び Western blotting による比較では、EBV 感染株において exosome 分泌量の増加を認めた。

5. EBV 関連胃癌細胞株 SNU719 の培養液から調整した exosome を蛍光色素 PKH67 で標識し、EBV 陰性の T リンパ球細胞株 Jurkat に作用させた後に共焦点顕微鏡で観察することで、リンパ球内に胃癌細胞株由来 exosome の取り込みを確認した。リンパ球から抽出した RNA の中から BART7 も検出でき、microRNA BART7 の exosome を介した細胞間の移動を明らかにした。

以上、本論文はヒト手術検体の免疫組織化学による検討や胃癌細胞株の実験を通して、クロマチンリモデリング因子 ARID1A の発現消失が EBV 関連胃癌と MLH1 陰性胃癌、及びその他の胃癌とで異なる臨床病理学的意義を有すること、及び EBV 関連胃癌では ARID1A 発現消失は発癌早期のイベントであることを明らかにした。更に、細胞株を用いた実験により、EB ウイルス由来 microRNA の BART7 について、その発現と細胞外分泌、及びリンパ球への取り込みを明らかにした。これらの研究は、今まで未知であった EBV 関連胃癌におけるクロマチンリモデリング因子 ARID1A と microRNA BART7 の意義を明らかにしたものであり、学位の授与に値するものと考えられる。