

論文内容の要旨

胃癌分離腺管および周囲粘膜における
分離腸上皮化生腺管，分離非腸上皮化生腺管の分子病理学的解析
(杉本 亮，織笠俊輔，松井雄介，肥田圭介，若林 剛)
(岩手医学雑誌 65 巻 4 号 掲載予定)

I. 研究目的

腸上皮化生は完全型腸上皮化生と不完全型腸上皮化生に分類されるが，両者の分子レベルの異常は十分な検討がなされていない．胃癌と腸上皮化生との関係についても前癌病変仮説と傍癌病変仮説とが対立している．腸上皮化生は胃癌の発生と密接に関連しており，分子レベルの異常を解明することは，胃癌発生を理解する上で重要である．

本研究では胃癌，周囲粘膜における完全型腸上皮化生 (Complete intestinal metaplasia: CIM)，不完全型腸上皮化生 (Incomplete intestinal metaplasia: ICIM)，非腸上皮化生 (Non intestinal metaplasia: NIM) の分子異常を解析することを目的とした．

II. 研究対象ならび方法

岩手医科大学外科にて切除された胃癌 43 例 (2006-2013 年) を対象とした．新鮮材料から癌部分と前庭部粘膜及び胃体部粘膜から採取し腺管分離法を行った．

前庭部粘膜及び胃体部粘膜の分離腺管に Alcian blue 染色を行い，Alcian blue 陽性 (AB+) 腺管と Alcian blue 陰性 (AB-) 腺管を回収した．その後，腸上皮化生腺管 (AB+) を抗 MUC 5AC 抗体を用いて免疫染色を行った．MUC5AC 陽性 AB+ 腺管と MUC5AC 陰性 AB+ 腺管を別々に回収し，後者に対して CD10 モノクローナル抗体で同様に免疫染色を行った．

前庭部粘膜から得られた分離腺管は 1) MUC5AC 陽性腸上皮化生腺管，2) MUC5AC 陰性 CD10 陰性腸上皮化生腺管，3) MUC5AC 陰性 CD10 陽性腸上皮化生腺管，4) 非腸上皮化生腺管の 4 種類であった．

各サンプルから DNA 抽出を行い，9 遺伝子 (*LOX*, *MINT31*, *RUNX3*, *ELM01*, *THBD*, *NEUROG1*, *SOC1*, *p16*, *hMLH1*) のプロモーター領域における DNA メチル化率を解析した．DNA メチル

化率30%以上をDNAメチル化陽性とした。DNAメチル化状態については、High Methylation Epigenotype (HME), Intermediate Methylation Epigenotype (IME), Low Methylation Epigenotype (LME)に分類した。

各サンプルのLOH解析は、PCR-LOH法を用いて、6染色体部位(3p, 4p, 5q, 9p, 17p, 18q)を解析した。胃体部大彎の非化生腺管との比較において30%以上の変化を示したものをLOH陽性とした。LOH状態については30%未満を低LOH状態(LOH-L)、30~60%未満を中等度LOH状態(LOH-I)、60%以上を高LOH状態(LOH-H)と定義した。

III. 研究結果

DNAメチル化の解析において、HMEを分類するマーカーでは、*MINT31*が最も陽性率が高く、IMEを示すマーカーのうち陽性率が高かったのは*ELMO1*であった。DNAメチル化状態において、癌腺管でLME 12例(50.0%)、次いでIMEは8例(33.3%)であった。CIM, ICIMではLMEが占める割合が高かった(各々24例(72.7%)、8例(24.3%))。前庭部NIMにおいては、LMEは27例(84.4%)、胃体部NIMにおいては、LMEが43例(100%)であった。

各分離腺管のLOHの頻度は、癌において最も高く、腸上皮化生腺管においては、完全型、不完全型双方において、各マーカーにおいてLOHの頻度がやや高い傾向がみられた。LOH状態は癌腺管においてLOH-Hが14例(58.3%)と高く、次いでLOH-Lは7例(29.2%)であった。CIM, ICIM, 前庭部NIMにおいてはLOH-Lは各々29例(87.8%)、41例(95.4%)、25例(78.1%)であった。

IV. 結 語

腸上皮化生腺管ではメチル化レベルの上昇や染色体アレルの欠損はみられるが、ゲノムレベルの異常の蓄積はみられないことが示唆された。腸上皮化生は単なる化生現象ではなく、非腸上皮化生腺管と比較してメチル化レベルの上昇した病変としての意義を有するものと思われた。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 鈴木 一幸 (内科学講座：消化器・肝臓内科分野)

副査 教授 前沢 千早 (医歯薬総合研究所：腫瘍生物学研究部門)

副査 准教授 石田 和之 (病理学講座：分子診断病理学分野)

胃癌の周囲粘膜はしばしば腸上皮化生を伴う萎縮性胃炎の状態を呈している。腸上皮化生の病態についてはこれまで多くの研究が行われてきたが一定の見解が得られていない。本研究では、胃癌及び周囲粘膜における分離腸上皮化生腺管(免疫組織化学的に完全、不完全に分類した)及び非腸上皮化生腺管のゲノムワイドの DNA メチル化レベルならびに LOH について解析する事を目的とした。

DNA メチル化解析では非腸上皮化生腺管、腸上皮化生腺管、胃癌腺管の順に DNA メチル化レベルの亢進がみられた。LOH 解析においては、胃癌においては高頻度にみられたが、腸上皮化生腺管においても個々の染色体アレルにおいては一定の頻度で LOH がみられたものの、LOH の蓄積は腸上皮化生腺管では低レベルであり、ゲノムレベルの異常の蓄積は腸上皮化生ではみられないことが示唆された。腸上皮化生は明らかに単なる化生現象ではなく、病変としての意義を有するものと思われた。学位に値する研究である。

試験・試問の結果の要旨

胃癌分離腺管および周囲粘膜における分離腸上皮化生腺管、分離非腸上皮化生腺管の分子病理学的解析について試問を行い、適切な解答を得た。学位に値する学識を有していると考えらる。

参考論文

- 1) 粘液形質にもとづいた胃粘膜内癌および周囲腸上皮化生の分子異常 (菅井 有, 他 7 名).
Helicobacter Research 16 巻, 2 号.
- 2) 発生部位に基づいた大腸癌の分子解析と背景粘膜の DNA メチル化異常 (菅井 有, 他 11 名). 胃と腸 47 巻, 13 号