

氏名(本籍)	森谷 鈴子(滋賀県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博士(論)第288号
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位授与年月日	平成13年12月12日
学位論文題目	Epstein-Barr virus 陽性胃癌の特性 1 Phenotypic characteristics of Epstein-Barr-virus-associated gastric carcinomas (Epstein-Barr virus 関連胃癌の形質発現から見た特性) 2 Different roles of p53 between Epstein-Barr Virus-positive and -negative gastric carcinomas of matched histology (同じ組織形態を示す Epstein-Barr Virus 陽性胃癌と陰性胃癌における p53の関与の違い)
	審査委員 主査 教授 谷 徹 副査 教授 小笠原 一誠 副査 教授 木村 博

論文内容の要旨

【目的】

Epstein-Barr Virus (EBV) 陽性胃癌は、日本人の全胃癌の約10%程度を占める。胃近位部、特に噴門部領域に好発し、通常の胃癌に比べて予後が良いことが知られている。EBV陽性胃癌は、粘膜内では不規則な網目状の吻合腺管からなる中分化型腺癌の像 (lace pattern)を呈し、浸潤と共に間質に強いリンパ球浸潤を伴う低分化型腺癌の像 (gastric carcinoma with lymphoid stroma) が主体となり、非常に特徴的な組織形態を示す。癌細胞周囲にリンパ球浸潤が強い点が、良好な予後と関連づけられてきた。一方 EBV 陽性胃癌固有の性質と予後との関連については未だ不明な点が多い。我々はまず、粘液組織化学的側面からEBV陽性胃癌の特性を検討した後、DNA修復・細胞周期制御に重要な役割を果たしている癌抑制遺伝子P53の蛋白発現に着目し、そのdownstream event であるp21WAF1蛋白の誘導、分裂像、アポトーシス、Ki-67 陽性率、DNA-ploidy pattern と癌の進行度を関連づけて検討し、EBV陽性胃癌の特殊性を癌細胞固有の性質という面から明らかにすることを目的とした。

【方法】

外科的に切除された胃癌160例に対し、EBV encoded small RNA (EBER) に対する in situ hybridization を行い、23例のEBV陽性胃癌を検出した。EBV陽性胃癌の組織形態の特殊性によるbiasを取り除くため、対照にはEBV陽性胃癌と類似の組織形態を示すEBV陰性胃癌15例を用いた。

ホルマリン固定パラフィン包埋ブロックより4μm切片を作製し、通常のHE染色に加え、GOS染色、Concanavaline A paradoxical 染色、HID alcian blue、p53、Ki-67、p21WAF1に対する免疫染色を行った。HE標本上で腫瘍細胞1000個あたりの分裂像、アポトーシスの数をカウントし、Ki-67陽性細胞率を算出した。またp53、p21WAF1については30%以上の腫瘍細胞が陽性である場合「陽性」と判定した。

50μm厚切り切片から細胞核を単離してスメア標本を作製し、DAPI染色を行った。対象病変は間質のリンパ球浸潤が強いので、flow cytometry ではなく、落射式蛍光顕微測光装置を用い、個々の細胞核の形態を確認しながらDNA量を定量した。またスメア標本上でDAPIとEBERの二重染色を行い、EBER陽性の胃癌細胞のみのDNA量を定量し、DAPI単独での測光の結果と一致する事を確認した。

【結果】

EBV陽性胃癌では、同じ組織型を示すEBV陰性胃癌に比して有意に「胃型」の粘液形質を示すものが多かった。

EBV陽性胃癌と陰性胃癌とで、DNA-ploidy pattern、Ki-67陽性率、分裂像の頻度、アポトーシスの頻度には有意な差は認めなかった。

早期癌ではp53陽性の頻度はEBV陽性、陰性間で差は認められなかったが、EBV陽性胃癌ではheterogenousな染色態度を示し、EBV陰性胃癌では癌領域の全体にわたって強い染色性を示した。また、EBV陽性のp53陽性胃癌では80%がp21WAF1陽性であったのに対し、EBV陰性のp53陽性胃癌では全例陰性であった。

一方EBV陽性進行癌ではp53陽性胃癌は10%であったのに対し、EBV陰性胃癌では78%であった。EBV陽性胃癌はEBV陰性胃癌と同様に abnormal ploidy pattern を示すにも関わらずp53陽性率は有意に低かった。

【考察】

従来胃癌は腸上皮化生や慢性胃炎を背景として発生し、腸型の形質を持つ事が多いと言われてきたが、EBV陽性胃癌では、胃型の粘液形質発現を示すという特徴がみられた。従来の胃癌とは異なる経路を経て発癌していることが示唆された。

EBV陽性胃癌でも陰性胃癌でも同等に abnormal ploidy pattern は出現しており、細胞増殖とアポトーシスの面でも同等であった。

正常のp53蛋白は、DNAに傷害が起こると過剰発現し、p21蛋白を誘導して細胞周期をG1期で停止させる。EBV陽性早期胃癌で見られたp53蛋白発現は、EBVによって引き起こされたDNA傷害に対して起こったp53の過剰発現を反映していると考えられる。

一方p53遺伝子にmutationが起こると、分解されにくい異常なp53蛋白が発現する。この場合p21の誘導は起こらない。EBV陰性胃癌では早期、進行期に関わらずp53のmutationがその発癌に積極的に関与していると考えられる。

EBV陽性進行癌ではp53陽性胃癌は稀で、abnormal ploidy pattern の発生にP53遺伝子の異常は積極的に関与していないと考えられ、むしろウイルス蛋白の関与が大きいと考えられる。

【結論】

EBV陽性胃癌と陰性胃癌とでは、腫瘍細胞の粘液組織化学的な性質が異なる他、その発癌過程におけるP53遺伝子異常の関与の仕方が異なる。

論文審査の結果の要旨

Epstein-Barr virus (EBV) 陽性胃癌は全胃癌の約11%で、噴門部に好発する。同胃癌は、lace pattern、gastric carcinoma with lymphoid stroma (GCLS) という特異的な組織像を呈し、粘液組織化学的にも胃型の形質発現を示すことをあきらかにした。

後半の研究では、細胞周期関連事項の検討がなされた。胃癌にはEBV陰性でも、lace patternやGCLSの組織像を示すものが少数ながら存在する。このような症例を対照とした非常に厳密な比較の結果、DNA-ploidy patternや細胞増殖、apoptosisに関しては、EBV陽性胃癌に特有の傾向はなかった。一方EBV陽性胃癌ではその発癌・進展過程でp53 mutationの関与は稀と考えられ、陰性胃癌ではその関与が強く示唆された。

本研究は、EBV陽性胃癌が組織形態学的に特異的で、かつその発癌・進展経路も通常型胃癌と異なる事を示唆し、全く新しい知見を得た研究であり、研究の経験についても本人の能力による所が大きく、博士(医学)授与に値すると認める。