

学 位 論 文 の 要 旨

学位の種類	博 士	氏 名	Amen Hamdy Zaky
学 位 論 文 題 目 Clinicopathological implications of genetic instability in intestinal type gastric cancer and intestinal metaplasia as a precancerous lesion: Proof of field cancerization in the stomach (分化型胃癌とその前癌病変としての腸上皮化生におけるゲノム不安定性と臨床病理学的関連性に関する研究：胃における field cancerization の証明) 共著者名 Jiro Watari, Hiroki Tanabe, Ryu Sato, Kentaro Moriichi, Atsumi Tanaka, Atsuo Maemoto, Mikihiro Fujiya, Toshifumi Ashida, Yutaka Kohgo American Journal of Clinical Pathology 2007 (in press) 研 究 目 的 胃癌は組織学的に分化型（腸型）と未分化型（胃型）に大別される。前者は <i>Helicobacter pylori</i> (<i>H. pylori</i>) 感染と関連して発生する腸上皮化生が発生母地と考えられており、腸上皮化生はその前癌病変とされている¹⁾。これまで、頭頸部癌や食道癌、膵管内乳頭粘液性腫瘍では、しばしば病変の多発を認め「癌の母地からの癌化」という‘field cancerization’の概念が提唱されてきた²⁾。分化型胃癌には4～10%の頻度で多発胃癌を認め、その発生には腸上皮化生が関連しているとされている。最近、われわれは腸上皮化生におけるゲノム不安定性が発癌リスクの早期のマーカーとなりうることを明らかにした³⁾。本研究の目的は、分化型胃癌での臨床病理学的因子に関して、胃癌組織とその前癌病変とされる腸上皮化生におけるゲノム不安定性との関連性について解析し、胃癌における‘field cancerization’の存在について遺伝子異常の観点から明らかにすることである。			

材 料 ・ 方 法

分化型早期胃癌 83 症例（胃癌群；粘膜内癌 32 例、粘膜下浸潤癌 27 例、進行癌 24 例）とそれぞれの症例における腸上皮化生および慢性胃炎症例 39 例（コントロール群）を対象とした。ホルマリン固定パラフィン切片より Laser capture microdissection system を用いて胃癌組織と腸上皮化生から選択的に DNA を抽出した。ゲノム不安定性としてマイクロサテライト不安定性（microsatellite instability: MSI）とヘテロ接合性の消失（Loss of heterozygosity : LOH）について、Bethesda 基準に準じた 5 つのマイクロサテライト・マーカーを用いて ABI PRISM310 Genetic Analyzer と GeneScan にて解析した。臨床病理学的検討項目として、癌占拠部位、深達度、脈管浸潤（リンパ管・静脈浸潤）、リンパ節転移について、胃癌組織と背景粘膜における腸上皮化生でのゲノム不安定性の関連を比較検討した。統計学的解析は、 χ^2 検定および Mann-Whitney 検定を用い、p 値が 0.05 未満を有意差ありとした。

成 績

ゲノム不安定性は、胃癌群の腸上皮化生の 48.2% (40/83)、胃癌組織の 65.1% (54/83) に認め、コントロール群の腸上皮化生の 20.5% (8/39) に比べ有意に高頻度であった ($p<0.005$ 、 $p<0.0001$)。解析した 5 つのマイクロサテライト・マーカーでは、何れも胃癌組織でのゲノム不安定性が最多で、特に D2S123 と BAT25 において高頻度であった。臨床病理学的にみると、胃癌組織での MSI は、癌占拠部位が M 領域<L 領域<U 領域の順で高くなり、U 領域と M 領域の間に有意差を認めた ($p<0.05$)。また、胃癌群での腸上皮化生での MSI も同様に、癌占拠部位が M 領域<L 領域<U 領域の順で高く、U 領域と M 領域、L 領域との間にそれぞれ有意差を認めた ($p<0.005$ 、 $p<0.05$)。癌深達度別にみると、粘膜内癌<粘膜下浸潤癌<進行癌の順でゲノム不安定性は高頻度となり、粘膜内癌と進行癌の間に有意差を認めた ($p<0.05$)。腸上皮化生でも同様にゲノム不安定性、特に LOH は粘膜内癌<粘膜下浸潤癌<進行癌の順で高頻度となり、早期胃癌（粘膜内癌+粘膜下浸潤癌）と進行癌との間に有意差を認めた ($p<0.05$)。脈管浸潤を認めた胃癌組織とその背景粘膜の腸上皮化生におけるゲノム不安定性は、ともに脈管浸潤のなかったものに比べ有意に高かった（それぞれ $p<0.05$ ）。また、リンパ節転移陽性の胃癌組織でのゲノム不安定性、特に LOH は陰性例に比べ有意に高かった ($p<0.05$)。同様に、腸上皮化生においてもリンパ節転移陽性での LOH は陰性例に比べて高頻度であった。次に、胃癌群の各症例において、癌組織とその背景粘膜の腸上皮化生でのゲノム不安定性の関係を検討したところ、MSI および LOH 発現の一致率はそれぞれ 80.7% (67/83) と 79.5% (66/83) と

高率であった。

考 案

胃癌組織とその背景粘膜の腸上皮化生におけるゲノム不安定性は、コントロール群の腸上皮化生より有意に高頻度に認められ、これまでわれわれが報告したように腸上皮化生に発現するゲノム不安定性は胃癌に関わる早期のマーカーとなり得る可能性を再確認できた。さらに、臨床病理学的諸因子とゲノム不安定性の関連性を解析すると、腸上皮化生におけるゲノム不安定性は胃癌組織と同様の傾向を示し、担癌胃の背景粘膜（腸上皮化生）においても胃癌組織と同様のゲノム異常を来していると考えられた。また、同一症例における胃癌組織と腸上皮化生における MSI と LOH の発現の一致率も 80%と高頻度であった。これらの結果から、腸上皮化生は前癌病変であり、多発胃癌の発生メカニズムとして、担癌胃において散在する腸上皮化生が発生母地となっており、胃における‘field cancerization’の存在が示唆された。また、非遺伝性大腸ポリポーシスの原因とされるゲノム不安定性（おもに MSI）の解析には、そのマイクロサテライト・マーカーとして BAT26 が最も感度が高いとされているが、本研究から胃癌の発生では、大腸癌の発生とは異なり、D2S123 と BAT25 が有用なマーカーと考えられた。

結 論

ゲノム不安定性の解析から、担癌胃における腸上皮化生には胃癌組織と同様の発癌リスクを有していると考えられ、多発胃癌の発生のメカニズムとしての腸上皮化生を発生母地とする‘field cancerization’の存在が示唆された。

引 用 文 献

- 1) Correa P. Human gastric carcinogenesis: a multifactorial process - First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention. Cancer Res 1992;52: 6735-6740.
- 2) Slaughter DP, Southwick HW, Smejkal W. “Field cancerization” in oral stratified squamous epithelium: clinical implications of multicentric origin. Cancer 1953;6:963-968.
- 3) Tanaka A, Watari J, Tanabe H, Maemoto A, Fujiya M, Ashida T, Das KM, Kohgo Y. Effect of eradication of *Helicobacter pylori* on genetic instabilities in gastric intestinal metaplasia. Aliment

Pharmacol Ther 2006-24(Supple 4): 194-202.

参 考 論 文

- 1) Watari J, Tanaka A, Tanabe H, Sato R, Moriichi K, Amen H Zaky, Okamoto K, Maemoto A, Fujiya M, Ashida T, Kiron M Das, and Kohgo Y. K-ras mutations and cell kinetics in Helicobacter pylori associated gastric intestinal metaplasia: A comparison before and after eradication in patients with chronic gastritis and gastric cancer. J Clin Pathol 60;921-926, 2007
- 2) 渡 二郎, 佐藤 龍, 田邊裕貴, 金野陽高, 石川千里, 稲場勇平, Amen H. Zaky, 盛一健太郎, 岡本耕太郎, 前本篤男, 藤谷幹浩, 蘆田知史, 高後 裕, 横田欽一, 斉藤裕輔. Crohn 病の上部消化管病変の臨床と経過-胃・十二指腸病変を中心に. 胃と腸 42;417-428, 2007

学位論文の審査結果の要旨

報 告 番 号	第 号		
学位の種類	博士(医学)	氏 名	Amen Hamdy Zaky
<u>審査委員長 葛 西 眞 一 ㊞</u> <u>審査委員 奥 村 利 勝 ㊞</u> <u>審査委員 高 後 裕 ㊞</u>			
学 位 論 文 題 目 Clinicopathological implications of genetic instability in intestinal type gastric cancer and intestinal metaplasia as a precancerous lesion: Proof of field cancerization in the stomach (分化型胃癌とその前癌病変としての腸上皮化生におけるゲノム不安定性と臨床病理学的関連性に関する研究：胃における field cancerization の証明)			
胃癌は組織学的に分化型(腸型)と未分化型(胃型)に大別され、前者は <i>Helicobacter pylori</i> (<i>H. pylori</i>) 感染と関連して発生する腸上皮化生が発生母地と考えられている。最近、われわれは腸上皮化生におけるゲノム不安定性が発癌リスクの早期のマーカーとなりうることを明らかにしたが、腸上皮化生でのゲノム不安定性と臨床病理学的所見とを詳細に比較した報告はない。一方、これまで頭頸部癌や食道癌、膵管内乳頭粘液性腫瘍では、「癌の母地からの癌化」という‘field cancerization’の概念が提唱されてきたが、胃癌発生における field cancerization の役割は明らかにされていない。本研究は、胃癌の発生過程において field cancerization の存在を、ゲノム不安定性の観点から検討し、胃癌組織のみならず癌周囲から広範囲に広がる腸上皮化生粘膜の部分にも、高頻度に microsatellite instability(MSI)や Loss of heterozygosis といったゲノムの不安定性が存在することを明らかにした。そして、これらのゲノム不安定性は、臨床病理学的に進行した悪性度の高い胃癌症例で、有意に高頻度に認められることが			

示された。さらに、癌部のみならず癌から離れた腸上皮化生にもゲノム不安定性が存在し、癌が進行するにつれ、腸上皮化生部のゲノム不安定性の頻度が増加することを明らかにした。これは、胃癌においても field cancerization が、発癌過程で関与していることを示唆している。また、胃癌の背景粘膜である腸上皮化生粘膜におけるゲノム不安定性は、胃癌の臨床病理学的因子の予測マーカーとして有用であると考えられた。以上の結果から、腸上皮化生にゲノム不安定性を持つ症例は、癌発生の高危険群であると同時に、第一の癌が治療されても、第二の癌が発生する可能性が高く、十分な経過観察が必要であると考えられた。

本研究は、胃癌とその前癌病変である腸上皮化生におけるゲノムの不安定性を解析し、臨床病理的な因子との相関、さらには field cancerization の存在を示す重要な論文で、この分野の研究にの発展に寄与すると考えられる。

なお、各審査員より、本論分とその関連領域に関して試問が行われた結果、適切な解答が得られた。以上より、本論分を学位論文に値するものと判定した。