

平成 19年 12月

原 明史 学位論文審査要旨

主 査 池 口 正 英
副主査 汐 田 剛 史
同 村 脇 義 和

主論文

Expression of Fhit, Mlh1, p16^{INK4A} and E-cadherin in early gastric neoplasia:
Correlation with histological grade and gastric phenotype

(早期胃腫瘍におけるFhit、Mlh1、p16^{INK4A}、E-cadherinの発現：組織学的程度と胃型形質との関連)

(著者：原明史、八島一夫、八杉晶子、香田正晴、河口剛一郎、原田賢一、安達裕宣、
汐田剛史、井藤久雄、村脇義和)

平成19年9月 Oncology Reports 18巻 553頁～559頁

学位論文要旨

Expression of Fhit, Mlh1, p16^{INK4A} and E-cadherin in early gastric neoplasia: Correlation with histological grade and gastric phenotype (早期胃腫瘍におけるFhit、Mlh1、p16^{INK4A}、E-cadherinの発現：組織学的程度と胃型 形質との関連)

近年DNAメチル化により遺伝子不活化を起こすepigeneticな異常が認識され、特に癌抑制遺伝子promoter領域の異常メチル化が発癌に関与することが明らかとなってきた。胃癌においても多くの癌抑制遺伝子の異常メチル化が報告されている。Fragile histidine triad (FHIT)、MLH1、p16^{INK4A}、E-cadherin遺伝子において、そのpromoter領域の異常メチル化が発癌の主要な経路であることがわかってきた。しかしながら胃癌発生過程早期におけるその役割は十分に解明されていない。今回我々は、胃腺腫、分化型粘膜内癌においてFHIT、MLH1、p16、E-cadherinに注目し、その蛋白発現と組織悪性度との検討を行った。またこれら4つの蛋白発現と胃型形質発現との関係についても比較検討した。

方法

1994年から2002年までに内視鏡的粘膜切除術により得られた胃腫瘍103例（腺腫41例、分化型粘膜内癌62例）のホルマリン固定パラフィン包埋材料を用いて抗Fhitウサギポリクローナル抗体、抗Mlh1マウスモノクローナル抗体、抗p16^{INK4A}マウスモノクローナル抗体、抗E-cadherinマウスモノクローナル抗体、抗HGMマウスモノクローナル抗体、抗MUC2マウスモノクローナル抗体および抗CD10マウスモノクローナル抗体を用い、ABC法により免疫組織化学染色を行った。Fhit免疫組織化学染色の評価は、染色領域と染色強度で行い、発現領域では、0, <5%; 1, 5~25%; 2, 25~50%; 3, 50~75%; 4, >75%と、発現強度では、0, 陰性; 1+, 微弱; 2+, 中等度; 3+, 正常粘膜と同等、と点数化し、両者を掛け合わせ最終的スコアとした（範囲0~12）。Mlh1およびp16の免疫染色では核での発現が、E-cadherin免疫染色では細胞膜での発現が腫瘍領域の30%以下を発現減弱とした。HGM免疫染色、MUC2免疫染色では細胞質を、CD10免疫染色では刷子縁を評価し、それぞれ腫瘍領域の10%以下の発現を陰性とした。形質発現は、胃型マーカー（HMG）のみ陽性を胃型、腸型マーカー（CD10・MUC2）のみ陽性を腸型、両方陽性を胃腸型、両方陰性を分類不能型とした。

結 果

Fhit、Mlh1、p16、E-cadherin蛋白発現の消失または減弱は、それぞれ粘膜内癌61例中22例 (35.5%)、18例 (29.0%)、18例 (29.0%)、22例 (32.3%) に認め、腺腫41例中3例 (7.3%)、5例 (12.2%)、5例 (12.2%)、4例 (9.8%) に比べていずれも高率であった。胃腺腫における軽度/中等度異型群と高度異型群の比較では、p16蛋白発現の消失が高度異型において高率であった (p=0.038)。形質発現では、胃型は腺腫41例中1例のみ (2.4%) に対して、粘膜内癌では62例中18例 (29.0%) に認め、逆に腸型は粘膜内癌では62例中22例 (35.5%) に対し腺腫41例中29例 (70.7%) と高率であった。癌抑制遺伝子と形質発現の関係では、Fhit、Mlh1、p16蛋白発現異常は、腸型の11.8%、13.7%、5.9%に比べ、胃型では52.6%、42.1%、57.9%と明らかに高率であった。癌抑制遺伝子の蛋白発現異常数は腺腫 (平均0.41) よりも粘膜内癌 (平均1.35) において有意に高く (p=0.00013)、また腸型 (平均0.41) よりも胃型 (平均1.35) において高率であった (p=0.0000019)。

考 察

今回の我々の検討により、Fhit、Mlh1、p16、E-cadherin蛋白発現の減弱または消失が胃腺腫から粘膜内癌への進展に重要な役割を果たしていることが示唆された。これまで癌関連遺伝子のDNAメチル化やその蛋白発現異常の蓄積が、胃癌の進行・進展段階に関与すると報告されているが、胃癌の早期段階においても重要であることが示された。p16蛋白発現に関しては、その減弱が胃腺腫における組織学的異型度と関連しており、胃腺腫癌化にp16遺伝子のメチル化が関与している可能性が考えられた。また、これまで胃型の癌は腸型に比べ悪性度が高いことが指摘されているが、1病変における癌抑制遺伝子の異常蛋白発現平均数は、腸型よりも胃型において高く、癌抑制遺伝子蛋白発現と形質発現を組み合わせると解析することは、胃腫瘍の悪性度評価に有用と考えられた。

結 論

胃癌発生過程において、癌抑制遺伝子 (*FHIT*、*MLH1*、*p16^{INK4A}*、*E-cadherin*) 蛋白発現異常が蓄積し、その蓄積は組織悪性度と胃型形質と関連していた。