【202】

氏　名（本籍）	鈴木（すずき）　かおり（千　葉　県）
学位の種類	博　　士（医　　学）
学位記番号	博　甲　第　2398　号
学位授与年月日	平成12年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	医学研究科
学位論文題目	胃癌の発生過程におけるテロメラーゼ関連遺伝子の発現に関する検討
主　査	筑波大学教授　医学博士　深尾　立
副　査	筑波大学教授　医学博士　武藤　弘
副　査	筑波大学教授　医学博士　野口雅之
副　査	筑波大学助教授　医学博士　齋田幸久
副　査	筑波大学講師　医学博士　植野　映

論文の内容の要旨

（目的）

日本において最も頻度の高い癌の一つである胃癌は高分化型胃癌と低分化型胃癌に分類され，分化型胃癌は慢性萎縮性胃炎および腸上皮化生を母地として発生すると一般的にいわれており，その発癌過程において多くの遺伝子異常の蓄積が生じていることが明らかにされてきた。また，発癌に際し，遺伝子変異とともに，「細胞の不死化」が起こることが近年明らかになり，そのkey factorとなるテロメア長を維持し延長する酵素であるテロメラーゼ活性に関する研究が行われつつある。テロメラーゼは鋳型RNAと蛋白質構成要素から構成されている。それらの内，触媒サブユニットであるhTERTのmRNAの発現とテロメラーゼ活性の間に相関が認められることから，hTERTmRNAの発現はテロメラーゼの活性化に必要であり，テロメラーゼ活性化のrate-limiting determinantであると考えられるに至った。胃癌には高率にテロメラーゼ活性が存在することが報告されているが，胃癌発癌過程におけるhTERTmRNA発現時期に関しては未だ明らかでない。

本研究では胃癌手術標本と内視鏡生検材料を用いて，胃癌および前癌状態の胃粘膜組織におけるhTERTmRNAの発現と病理組織学的所見を比較検討することにより，hTERTmRNAの「発現時期」を検討した。

また，H.pyloriの持続感染が慢性胃炎の主な原因であることが近年明らかになり，H.pyloriと胃癌発生との関連性が検討がなされているが，慢性胃炎症例におけるH.pylori感染とhTERTmRNAの発現の関わりも検討した。

（対象および方法）

1）検討対象組織：手術切除組織については，未治療で胃切除を施行された15例の胃癌切除組織を用いた。また，内視鏡検査時の生検材料については，胃癌3例，慢性胃炎60例，胃潰瘍辺縁の再生粘膜7例，胃びらん4例，正常胃粘膜8例，計82例の胃粘膜を用いた。全ての症例において隣接部位から2個の組織を採取し，1個はRNA分析用とし，他の1個は病理組織評価用とした。さらに一部の手術例では，RNA分析用に採取した組織を2個に分け，テロメラーゼ活性測定に使用した。なお，組織採取に際しては，全ての患者からこの研究の趣旨に関し，informed consentを得た。

2）hTERTmRNAの検出：Reverse transcription-polymerase chain reaction（RT-PCR）にて行った。

3）テロメラーゼ活性測定：Telomeric repeat amplification protocol（TRAP）法により測定した。

4）病理組織検査：標本組織切片を haematoxyline and eosin 染色し病理組織学的に評価した。

5）H.pylori の検出同定：培養法，迅速ウレアーゼ試験，病理組織学的評価によって行った。

6）統計学的評価：慢性胃炎における hTERTmRNA の発現頻度と臨床データおよび病理組織学的特徴との関連については Fisher's exact test あるいは Mann Whitney Utest を用いて分析した。P＜0.05 を有意差と判断した。

（結果）

1）hTERTmRNA は胃癌組織の 89%（18/16 例）に発現しており，組織型や進行度との関連性は認められなかった。

2）テロメラーゼ活性は胃癌 11 症例 22 組織全例において hTERTmRNA の発現との一致が認められた。

3）慢性胃炎症例における hTERTmRNA の発現は 23%（14/60 例）に認められ，特に腸上皮化生を伴った粘膜では 47%（7/15 例）と，腸上皮化生を伴わない胃炎粘膜と比べ有意に高い発現頻度であった。

4）腸上皮化生の腺管における dysplastic change の程度と hTERTmRNA の発現との間に統計学的に有意差が認められなかった。

5）慢性胃炎粘膜における hTERTmRNA の発現は，年齢，性別，生検部位，炎症細胞浸潤や腺萎縮の程度，リンパろ胞，H.pylori 感染の有無とは関連性が認められなかった。

（考察）

hTERTmRNA の発現は，ほとんどの胃癌組織のみならず，前癌状態と考えられている腸上皮化生粘膜においても高率で認められ，胃癌発生における早期段階で hTERTmRNA の発現が認められることを示した。テロメラーゼの活性化は全て癌化を意味するわけではないが，発癌過程において細胞が不死化を獲得する上で重要な event であることは明らかであり，early event であるとすれば hTERTmRNA の発現，あるいはテロメラーゼ活性が，慢性胃炎症例における胃癌の高危険群のスクリーニングに応用できると期待できる。しかし，胃癌組織においても 2 割近くトロメラーゼ活性陰性例があること，リンパ球における弱い活性の存在，胃正常細胞における hTERTmRNA の発現の可能性などの問題点もあげられる。胃粘膜は種々の細胞により構成されているので，慢性胃炎における hTERTmRNA の発現がどの細胞にあるのかを，in situ hybrildization あるいは免疫組織科学染色などの手法を用いて明らかにする必要がある。胃病変組織採取は内視鏡検査時生検により可能であることから，生検材料を用いてこのような分子生物学的検討が日常の臨床診療の場において，診断や治療に生かされることが今後期待される。

H.pylori 感染の有無と hTERTmRNA の発現とは明らかな相関が得られなかったが，生検組織を用いて H.pylori の存在診断を行っているため，高度の萎縮例の中に偽陰性，あるいは既往感染の症例が存在すると考えられ，今後 H.pylori 抗体も考慮に入れた検討が必要である。通常腸上皮化生粘膜には H.pylori がほとんど生息しないことが明らかとなっているので，直接 H.pylori が腸上皮化性粘膜に直接影響を及ぼしているか否かについては今後の検討が必要である。

審 査 の 結 果 の 要 旨

（批評）

胃癌には高率にテロメラーゼ活性が存在することが報告されている。本研究では慢性胃炎，腸上皮化性，胃癌それぞれの段階における病理組織所見と，各組織のテロメラーゼ活性およびテロメラーゼ活性化関連遺伝子のひとつである hTERTmRNA の発現の相関を，手術標本および内視鏡検査生検組織を用いて検討した。その結果 hTERTmRNA の発現は，ほとんどの胃癌組織のみならず，前癌状態と考えられている腸上皮化生粘膜においても高率に認められることが明らかとなった。またテロメラーゼ活性の有無と hTERTmRNA の発現はよく一致してい

た。少数ではあるが胃癌組織でテロメラーゼ活性陰性例のあることや，正常組織のhTERTmRNAの存在の有無など，今後検討すべき課題は多いとはいえ，内視鏡検査時の生検組織を使ったこれらの分子生物学的検討が日常診療に導入され得ることを示唆した研究として意義深いものがある。よって本論文は博士論文として妥当であると判定された。

よって，著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。