

## 第4章 総括

### 1. 第1章

第1章では、テロメアやテロメラーゼの構造や機能の解明のために行われてきた研究の歴史を通して、テロメアやテロメラーゼの概念をはじめ、これまでに明らかにされてきたテロメアの構造や機能、テロメラーゼの活性や機能、分子構造および癌との関係について、文献を交えながら考察した。とくにテロメラーゼの研究は、ここ数年急速に進歩した分野である。腫瘍細胞ではテロメラーゼが活性化することにより、テロメア長を維持し無限増殖能を獲得する働きや、断裂 DNA 末端に *de novo* にテロメア構造を付加してゲノムの不安定性を解消し、異常染色体の発現を促進する働きがあることが明らかになった。テロメラーゼはこのように腫瘍細胞の悪性化に関与しており、発癌における細胞機能の変化として、非常に注目されている。残念ながら現在においてもテロメラーゼ活性調節機構がすべて解明されているわけではないが、細胞の癌化のメカニズムにおける役割や活性獲得機序のいっそうの解明など、今後も発展の期待される分野である。

### 2. 第2章

食道扁平上皮癌は発見時にすでに進行癌であることが多く、予後不良の癌である。一方、ヒト各種癌組織ではテロメラーゼが高率に活性化され、細胞の不死化と関連している。さらに、テロメラーゼ触媒サブユニットの *hTERT* の発現とテロメラーゼ活性発現の相関が報告されている。食道癌においても、高頻度にテロメラーゼ活性の発現を認めることはすでに報告されてきた<sup>45 46 47</sup>。しかし、正常食道組織でのテロメラーゼ活性の発現については、報告者により発現率に大きな差があり、一定した見解がなかった。さらに食道組織においてテロメラーゼ活性の発現と *hTERT* の発現の相関を検討した報告はなかった。

そこで本研究では、食道癌組織および食道非癌組織において *hTERT* mRNA の

発現およびテロメラーゼ活性がどの組織で認められ、かつ *hTERT* mRNA 発現とテロメラーゼ活性の間に相関が認められるのかを明らかにするため、食道癌、炎症病変および正常食道粘膜における *hTERT* mRNA の発現の測定、テロメラーゼ活性の定量的測定を行い、比較検討した。

食道癌 14 例、良性食道疾患 16 例、正常食道粘膜 11 例を対象とし、*hTERT* mRNA の発現とテロメラーゼ活性の両者を測定し検討した。*hTERT* mRNA 発現の測定は RT-PCR 法を、テロメラーゼ活性の測定は F-TRAP 法を用いた。食道癌では *hTERT* mRNA の発現は 93% の症例で認め、テロメラーゼ活性は測定した全例で認めた。良性食道疾患は *hTERT* mRNA 発現は 83%、テロメラーゼ活性は 89% の症例で認めた。正常食道粘膜では *hTERT* mRNA の発現は 91%、テロメラーゼ活性の発現は 100% の症例で認めた。また、テロメラーゼ活性の発現を認めた 32 例中 29 例 (91%) で *hTERT* mRNA の発現が認められた。さらに、テロメラーゼ活性の定量化測定では、食道癌では逆流性食道炎や正常食道粘膜に比べ、有意に強いテロメラーゼ活性を発現していることが明らかになった ( $P < 0.05$ )。

テロメラーゼ活性発現と *hTERT* mRNA 発現の相関はすでに他臓器で報告されているが<sup>29,30,31</sup>、本研究でも 91% と高い一致性を認め、食道組織においても *hTERT* mRNA 発現とテロメラーゼ活性発現に非常に強い相関があることが示唆された。また、食道癌においては *hTERT* mRNA もテロメラーゼ活性同様、高頻度に発現していることが明らかとなった。一方、逆流性食道炎や正常食道粘膜におけるテロメラーゼ活性は、Ikeguchi らや Bachor らの報告<sup>47,53</sup>と同様、高頻度に発現を認め、*hTERT* mRNA の発現も高頻度に認められた。そこで、報告者により正常食道粘膜のテロメラーゼ活性発現の頻度が異なる理由を考察したが、原因として、サンプルを採取した対象の影響やサンプルの前処置の影響が考えられた。一方、本研究における逆流性食道炎や正常食道粘膜でテロメラーゼ活性発現や *hTERT* mRNA の発現の理由については、炎症組織ではリンパ球における弱いテロメラーゼ活性の存在<sup>61</sup>が考えられた。また、正常食道粘膜では組織学的に類似した構造の皮膚や子宮頸部において、扁平上皮基底細胞層の幹細胞におけるテロメラーゼ活性や *hTERT* の発現を認める報告があり<sup>58,59</sup>、幹細胞由来の発現の影響と考えられた。以上より、炎症組織ではリンパ球混在による影響、正常食道粘膜では基底

細胞層の幹細胞の影響がテロメラーゼ活性発現および *hTERT* mRNA 発現に影響を与えているものと考えられた。

このように、本研究では、食道組織においては癌組織も非癌組織もテロメラーゼ活性および *hTERT* mRNA の発現を認めることを明らかにした。しかし、テロメラーゼ活性の定量的測定によって、癌組織では炎症組織や正常粘膜よりテロメラーゼ活性は有意に高値であることを明らかにし、食道組織においてテロメラーゼ活性定量的測定は、重要な癌化のマーカーとなり得ると考えられた。一方、食道組織における *hTERT* mRNA 発現の定性的測定は、癌化の指標としては有用性が少なく、*hTERT* 遺伝子発現の組織における局在を示すことが重要であると考えられた。

### 3. 第3章

近年、*H. pylori* の慢性感染が胃癌の発生リスクを上昇することや、*H. pylori* 除菌により胃癌発生リスクが低減されることが、疫学的調査結果で明らかになった<sup>67</sup>。現在、胃癌発生のメカニズムとしては、Correaによって提唱された、「*H. pylori* の慢性感染による一連の炎症性変化の最終段階において、分化型の胃癌が発生する」という仮説が広く受け入れられている<sup>93 94 95</sup>。*H. pylori* 感染が胃癌発生メカニズムへ与える影響として、これまでに *H. pylori* の慢性感染による *p53* 異常集積や、各種癌遺伝子への影響が報告されている<sup>107 108 109</sup>。一方、*H. pylori* の慢性感染によりテロメラーゼ活性が誘導される可能性が示唆され<sup>55</sup>、前癌状態と考えられている腸上皮化生粘膜では、*hTERT* 発現は30~40%と比較的高頻度に発現しているという報告がなされた<sup>56 118</sup>。これらの報告は、*H. pylori* 慢性感染が *hTERT* 遺伝子発現を誘導する可能性を示唆していると考えられる。

本研究では、慢性胃炎粘膜でのテロメラーゼ関連遺伝子 (*hTERT* mRNA) の発現を *H. pylori* 除菌治療前後で比較し、*H. pylori* の感染および除菌治療が *hTERT* 遺伝子の発現に与える影響について、病理組織学的特徴とあわせて検討した。

*H. pylori* 除菌治療を行った64症例を対象とし、除菌治療前全例に内視鏡観察、

*H. pylori* 存在診断，組織採取を行った．除菌治療後は短期，中期，長期の 3 期に分け，内視鏡観察，*H. pylori* 存在診断，組織採取を行った．*hTERT* mRNA 発現の測定は RT-PCR 法を用い，病理組織学的評価は Updated Sydney System に従って分類し，評価を行った．

*H. pylori* 除菌前後で *hTERT* mRNA の発現を比較検討できた症例は 32 例（除菌失敗例，再除菌例を含む）であり，観察期間別の内訳は，短期観察群 12 例，中期観察群 9 例，長期観察群 11 例であった．*H. pylori* 除菌治療前における *hTERT* mRNA の発現は 63%において認められた．除菌後の経過では，81%の症例において除菌治療前後で *hTERT* mRNA の発現の変化は認めなかった．残る 19%のうち，短期観察群において *H. pylori* 除菌前に *hTERT* mRNA の発現が陽性であったものが除菌後に陰性化した 1 例，中期観察群において除菌前に *hTERT* mRNA の発現は陰性で除菌後早期に *hTERT* mRNA が発現し，その後発現が持続した 1 例，長期観察群において除菌前に *hTERT* mRNA の発現が陰性で，除菌後 1 年以上を経て *hTERT* mRNA の発現が陽性化した，除菌失敗例の 1 例を含む 4 例が認められた．以上の *hTERT* mRNA の発現の変化した 6 例では，病理組織学的には除菌後に炎症細胞浸潤の改善が認められた一方，腸上皮化生の新生や改善は認められず，除菌前より腸上皮化生の存在が認められた 1 例で，除菌後に腸上皮化生の進行が認められたのみであった．

*H. pylori* 除菌前後で *hTERT* mRNA の発現を比較検討した研究は現時点では本研究が初めてである．本研究では除菌前に *hTERT* mRNA の発現が 63%で認められた．これまでの報告でも腸上皮化生胃粘膜では *hTERT* mRNA の発現は比較的高頻度に認められており<sup>56</sup>，また本研究では前庭部小彎より採取した症例の 75%で *hTERT* mRNA の発現が認められていることより，前庭部小彎の組織には高頻度で腸上皮化生粘膜を含んでいるものと考えられた．*H. pylori* 除菌後の経過では，81%の症例において除菌前後で *hTERT* mRNA の発現に変化が認められないことが明らかになった．また，除菌後 1 年以上の経過で，病理組織学的に炎症細胞浸潤の改善を認め，腸上皮化生の新生や進展がないにもかかわらず *hTERT* mRNA の発現が陽性化する症例が存在した．これらの結果は，*hTERT* mRNA の発現は *H. pylori* 感染早期から誘導されている可能性，*hTERT* 発現は *H. pylori* 感染の直接的な影響

はほとんど受けずに別の調節機構によって調節されている可能性を示した。さらに、*H. pylori* 感染慢性胃炎の一部では、*H. pylori* 除菌治療後でもテロメラーゼの活性が誘導化され、胃癌発生において細胞の不死化獲得という重要な事象のリスクは、必ずしも低下しない可能性を示した。臨床的には *H. pylori* 感染者の除菌治療開始年齢による胃癌発生リスクの相違や細な検討を行うことで、さらに興味深い結果が得られる可能性が考えられた。

以上、本研究の成果として、*H. pylori* 感染慢性胃炎粘膜の除菌前における *hTERT* mRNA の発現は、慢性胃炎粘膜の約 63% で認められたこと、*H. pylori* 除菌治療後も 80% 以上で *hTERT* mRNA の発現は変化せず、陰性化しないことを明らかにした。さらに、*H. pylori* 感染の直接的な影響はほとんど受けずに別の調節機構によって *hTERT* 発現の調節がなされている可能性を示した。

#### 4. 結 論

本研究では、消化器癌の悪性化進展のメカニズムに関わるテロメラーゼおよびテロメラーゼ関連遺伝子 (*hTERT*) に関する研究を行い、以下の結論を得た。

食道組織においては、癌組織のみならず非癌組織においても、高率に *hTERT* mRNA の発現を認めることが明らかとなった。このため食道組織における *hTERT* mRNA 発現の定性的測定は、癌化の指標としては有用性が少なく、*hTERT* 遺伝子発現の組織における局在を示すことが重要であると考えられた。一方、テロメラーゼ活性定量的測定により、食道癌におけるテロメラーゼ活性は正常食道粘膜や炎症性食道疾患よりも有意に強い活性を持つことが判明し、重要な癌化のマーカーとなり得ると考えられた。一方、胃発癌のメカニズムにおいて、*H. pylori* 慢性感染が胃粘膜細胞に対しさまざまな遺伝子変化などの影響を与えていると考えられている。しかしテロメラーゼ関連遺伝子 (*hTERT* mRNA) は、*H. pylori* 感染慢性胃炎で比較的高頻度で発現を認めるものの、除菌治療後に発現の変化などの影響はほとんど受けず、陰性化しないことが明らかとなり、*hTERT* 発現調節は *H. pylori* 感染刺激とは別の調節機構により調節されている可能性が示唆された。

したがって、消化器癌においては *hTERT* 遺伝子やテロメラーゼ活性の発現は正常組織でも高頻度で認められ、「テロメラーゼ活性の発現＝癌」は必ずしも当てはまらないことを示し、定量的な発現測定が有用と考えられた。また、胃発癌のメカニズムにおいて、*H. pylori* の影響を除菌治療により排除しても、胃粘膜細胞に生じている *hTERT* 発現を改善する可能性が少ないことが判明し、消化器癌の悪性化におけるテロメラーゼ活性の獲得は、癌化過程の非常に早い段階より生じている可能性が示唆された。