

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2007～2010

課題番号：19406007

研究課題名(和文) 中国東北地方の悪性腫瘍と関連疾患の発症要因の学術調査

研究課題名(英文) Academic project of oncogenic factors in malignant tumors and the related diseases in northeast China

研究代表者

蓮井 和久 (HASUI KAZUHISA)

鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科・講師

研究者番号：70198703

研究代表者の専門分野：人体病理学

科研費の分科・細目：基礎医学・人体病理学

キーワード：節外性 NK/T 細胞リンパ腫、上咽頭癌、中国東北地方、(免疫) 組織化学、プログラム細胞死、癌幹細胞、Epstein-Barr virus (EBV)、環境因子

### 1. 研究計画の概要

この海外学術研究は、中国瀋陽市に位置する中国医科大学の賈心善教授を海外研究協力者として、海外学術研究の倫理面の対応を行い、日本で非常に少なく中国で非常に多い鼻 NK/T 細胞リンパ腫 (NKTCL) の中国東北地方の症例を継続的に収集し、NKTCL とその背景に出現する異型上皮と上咽頭癌の発生状況を明らかにすると共に、これらの病変の性格を解析する免疫組織化学的方法を用い、あるいは開発して、検索できる保存病理標本でこれらの病変の発症要因の解析を行う。

この研究で開発する保存病理組織標本での免疫組織化学的な腫瘍細胞の特徴的な分子発現の検出方法は、生体内の腫瘍細胞の特徴を明らかにすることが出来て、次世代の分子病理学の研究方法の一つであり、学際的にも、この研究のヒト保存病理標本での検索方法の開発と確立は意義のあるものと理解される。そして、この研究は、血液病理学、ウイルス学、腫瘍学、衛生学に寄与する。

### 2. 研究の進捗状況

鼻咽頭部のリンパ腫(134例)を検索し、T・NK細胞腫瘍(T-ML、82例)、B細胞リンパ腫(B-ML、33例)、微小扁平上皮癌(5例)を認め、鼻腔での T-ML (多くは NKTCL)、咽頭での B-ML、男性での NKTCL、40才以上での B-ML の有意な発病を認めた。

EBER-1 in-situ hybridization で EBV 感染を検索し、鼻腔での多数の EBV+ リンパ腫と咽頭での EBV+ 微小扁平上皮癌を確認し

た。EBV+ NKTCL は腫瘍性 EBV 感染拡大を示したが、EBV- NKTCL が確認され、EBV 感染は EBV+ 腫瘍の発症に直接関与しないことが示唆された。Survivin の免疫染色で、Survivin+リンパ腫細胞は EBV+リンパ腫細胞を含み、11例の Survivin+ EBV- 微小扁平上皮癌は EBV+ NKTCL に並存し、EBV 感染に先行する発癌性環境因子の存在が示唆された。8-OHdG の免疫染色で、病変中の呼吸上皮と扁平上皮のほぼ全例、漿液性腺上皮の半数で、外的 ROS による DNA 損傷が確認された。

プログラム細胞死の免疫染色で、特異な壊死を示す EBV+ NKTCL は、Bcl-2 の有意な発現低下、Survivin の強発現による Apoptosis 抑制、Beclin-1 発現と LC3 で標識される自己食食亢進と細胞死を示し、自己食食亢進と Cathepsin D 産生低下による消化不良による特異な自己食食細胞死の誘導を示唆した。8-OHdG の免疫染色で、腫瘍細胞は自己食食亢進に伴うミトコンドリア由来の内的 ROS 産生による DNA 損傷の蓄積を示し、B-ML は 8-OHdG 陽性細胞死を伴う定常的増殖ないし細胞減少性増殖を示し、NKTCL は 8-OHdG 陽性を示す特異な自己食食細胞死を伴う増殖を示し、内的 ROS 産生の自己食食細胞死への関与を示唆した。

### 3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している。

研究期間内に予定した(1) 中国の鼻咽頭リンパ腫の発生状況と EBV 感染の実情を明らかにし、(2) NK/T 細胞リンパ腫と NK 細胞

リンパ腫が LAT-1 (Linker for activation of T-cell-1) の免疫染色で判別可能であるが、両者には臨床病理学的に明らかな差が無いことを確認し、(3)鼻 NKTCL の早期病変や並存する異型上皮の腫瘍性の検出に Survivin の免疫染色が有用であることを示し、(4) プログラム細胞死解析の免疫組織化学的方法を確立し、EBV 関連の特異な自己貪食細胞死を明らかにし、(5)環境因子の一つである外的 ROS による DNA 損傷の存在を示すと共に腫瘍細胞における自己貪食亢進や細胞死と内的 ROS 産生による DNA 損傷の関係を示した。

更に、(6) 所謂 NKTCL の介在 CD204+マクロファージを見出し、CD204 が腫瘍介在マクロファージ、自然免疫系と細胞傷害性細胞性免疫に関与するマクロファージのマーカーである可能性を示唆し、(7) NKTCL 細胞株とヒト組織での NKTCL のプログラム細胞死の違いを明らかにした。

#### 4. 今後の研究の推進方策

発癌性環境因子は、細胞の DNA 点突然変異を生じさせるか、遺伝子増幅ないし欠損、染色体転座等を生じさせて、暴露する細胞の腫瘍化を生じることが考えられることから、今後、この研究での保存病理標本での検索で検討可能な DNA の塩基のニトロ化、DNA の塩基の修飾で遺伝子の変化や染色体異常を生じさせる activation induced cytidine deaminase (AID) の発現の免疫組織化学的検出方法を確立して、検討したい。

また、上記の様に、NKTCL における介在マクロファージを腫瘍介在マクロファージマーカーや自然免疫系や細胞傷害性細胞性免疫系に介在するマクロファージの特徴を保存病理組織標本での解析する方法を確立し、検討したい。

更に、研究を拡大させて、作製されていない中国の鼻 NKTCL の細胞株の樹立を目指し、生体内の鼻 NKTCL 細胞と同じ形質を有する細胞株を得て、多面的な解析を加え、医学・医療に貢献したい。

#### 5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 7 件)

- ① Wang J, Hasui K, Jia XS, Matsuyama T, Eizuru Y. Possible role for external environmental stimuli in nasopharyngeal NK/T-cell lymphomas in the northeast of China with EBV infection-related autophagic cell death: a pathoepidemiological analysis. *J Clin Exp Hematopath.* 2009; 49(2): 97-108.

- ② Kato K, Hasui K, Wang J, Kawano Y, Aikou T, Murata F. Homeostatic Mass Control in Gastric Non-Neoplastic Epithelia under Infection of *Helicobacter pylori*: An Immunohistochemical Analysis of Cell Growth, Stem Cells and Programmed Cell Death. *Acta Histochem Cytochem.* 2008; 41(3): 23-38

[学会発表] (計 20 件)

- ① Hasui K, Wang J, Eizuru Y, Kawano Y, Aozasa K. EW2-2: Pathoepidemiological analysis of nasal and pharyngeal malignant lymphomas in the eastnorthern China. 第 67 回日本癌学会学術総会 English workshop (EW2: Asian Specific Cancer and its Prevention). 2008.10.28-30. 名古屋

[図書] (計 2 件)

- ① Hasui K, Wang J, Jia XS, Matsuyama T, Izumo S, Kawano Y, Kanekura T, Eizuru Y, Aozasa K. Pathoepidemiology of Epstein-Barr virus (EBV) infection and peculiar necrosis in nasal NK/T-cell lymphomas (NKTCL) in northeast China. *Proceedings of the 10th Japan-Korean Lymphoreticular Workshop (2009.10.28-30, Fukushima View Hotel).* in press.

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: 免疫組織染色を用いる細胞の解析方法  
発明者: 蓮井和久、王嘉、松山隆美、榮鶴義人

権利者: 蓮井和久

種類: 特許

番号: 特願 2009-1595

出願年月日: 平 21. 1. 7

国内外の別: 国内

[その他]

研究成果報告会として、2007 年 9 月に、ハルピン医科大学セミナー、吉林大学医学部セミナー、中国医科大学第 2 回日中病理学シンポジウムを、2009 年 8 月に、第 3 回日中病理学シンポジウム (山東大学医学部、済南) を実施している。これらの報告会の記録とこの研究に関連した緒事項を、研究用ホームページで公開している (研究用ホームページ: <http://www.ab.auone-net.jp/~khasui/>)。