

機関番号：32607

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21790363

研究課題名(和文) ゲノム不安性とメチル化異常から見た若年胃癌の特異的発癌経路と予後関連因子の解明

研究課題名(英文) Carcinogenic pathway and prognosis of gastric cancer in young patients: genome instability and DNA methylation

研究代表者

一戸 昌明 (ICHINOE MASAOKI)

北里大学・医学部・講師

研究者番号：80365163

研究成果の概要(和文)：若年胃癌は、非若年胃癌に比して女性の割合、肉眼型で5型が多く、低分化型腺癌が有意に多いという結果が得られた。背景粘膜では、萎縮や腸上皮化生が乏しく、好中球浸潤を主体とする高度の炎症細胞浸潤やL-type amino acid transporter(LAT1)の発現があることが分かり、背景粘膜に特徴があることが示唆された。ゲノム不安定性やメチル化異常の差異については確認できなかったが、若年胃癌では、非若年胃癌症例に比して、hMLH-1の発現の消失や減少が低頻度な傾向があることより、DNA ミスマッチ修復遺伝子の異常が関与している可能性が低いことが推測される。また若年胃癌は非若年胃癌に比して予後が良好であることが分かったが、予後に関連する因子を同定することは出来なかった。

研究成果の概要(英文)：Clinicopathological feature of young gastric cancer showed significant preponderance for female occurrence, poorly differentiation and Borrmann 5 type. In background mucosa of young gastric cancer, more neutrophilic infiltration, less atrophy and intestinal metaplasia were observed rather than non-young gastric cancer cases. Further, higher LAT1 expression was observed. The difference was not identified between young gastric cancer cases and non-young gastric cancer cases view point of microsatellite instability and methylation status. However, there was a weak tendency that high prevalence of the loss of hMLH-1 expression in non-young gastric cancer. Therefore, abnormality of DNA repair gene might be correlated with the occurrence of non-young gastric cancer rather than young gastric cancer. Young gastric cancer patients showed better prognosis. However, prognostic factor was not identified in this research.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・人体病理学

キーワード：胃癌、若年、予後

## 1. 研究開始当初の背景

## ① 若年胃癌の特徴

若年胃癌は、通常40才以下に発症する胃癌と定義されており、文献的に胃癌全体の

約 4-15%の頻度で見られ(*Ann Surg Oncol* 7:515-9, 2000)、a) 女性に多く、b) 低分化癌が多く、c) 静脈侵襲やリンパ管侵襲が高頻度、といった特徴が挙げられる。若年発症である点で、非若年胃癌に比して長期 follow up が必要不可欠であるが、発癌経路・予後等に関して統一した見解はなく、早急に根本的な検討が必要な癌と考えられる。

## ② 若年胃癌・H. pylori 感染

胃癌背景粘膜では、*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) 感染による慢性萎縮性胃炎があり、さらに慢性萎縮性胃炎の終末像である腸上皮化生は、*H. pylori* と共に胃発癌と強い関連がある事が示されている。当施設においても若年胃癌では、高頻度に *H. pylori* 感染が見られ、長期感染による慢性萎縮性胃炎が若年者の発癌に密接な関連があることが知られている。

予備的検討として、若年胃癌と非若年胃癌背景粘膜における胃炎の程度を Sydney 分類をもとに 15 例ずつ比較してみると、「若年胃癌では、*H. pylori* 感染の頻度が高いにも関わらず、萎縮性胃炎の終末像である腸上皮化生の頻度・程度が有意に低い」という非常に興味深い結果を確認した。

## ③ ゲノム不安定性とメチル化異常

当施設では胃癌背景粘膜における胃炎を比較検討した研究を行っており、持続した胃粘膜障害がある背景粘膜では、有意に腸上皮化生や胃粘膜萎縮が存在し、粘膜筋板が肥厚していることを示した。さらに喫煙等生活歴とも関連があることを明らかにしている(Ichinoe et al, *Am J Clin Pathol* 128: 287-92, 2007)。よって、若年胃癌では、腸上皮化生を介さない特異的発癌経路があることが強く疑われる。さらに若年発症という点を加味すると、飲酒や喫煙歴より、むしろ家族歴や特異的遺伝子異常が関与する可能性が高く、非若年胃癌とは異なるゲノム不安定性やエピジェネティック異常(DNA プロモーター領域のメチル化異常)があり、背景粘膜にも差異がある事が推測される。

## ④ 間質細胞における遺伝子異常

一方、若年者に発症する炎症性腸疾患である潰瘍性大腸炎は、長期間の炎症により

発癌することが既に解明されており、持続する粘膜障害が発癌に関与していることが分かっている。

さらに潰瘍性大腸炎関連癌では、間質細胞においても遺伝子異常があることが当研究室にて確認されている(*Cancer Res* 63: 6158-61, 2003)。よって背景に持続する粘膜障害がある若年胃癌においても上皮細胞のみならず、間質細胞においても遺伝子異常があることが強く推測される。

## 2. 研究の目的

上記背景を基に、若年胃癌の癌部・背景粘膜におけるゲノム不安定性・DNA メチル化異常の有無を中心に解析し、予後・生活歴・家族歴等臨床病理学的特徴との関連性を調べ、若年胃癌の特徴を明らかにし、さらに予後関連因子を解明する。

## 3. 研究の方法

### ① 対象

免疫染色や遺伝子検索の対象として、1986年～2007年までに北里大学東病院で切除された若年胃癌 32 例を対象とした。また比較群として、非若年胃癌 21 例を抽出した。

### ② DNA 抽出・ゲノム不安定性の検索

癌部・非癌部(背景粘膜)におけるホルマリン固定パラフィン連続切片を 15 枚作成し、上皮及び近接した間質細胞を LCM 法にて分離し、個々の DNA を抽出した。抽出した DNA を用いて、各染色体マーカー(NCI 推奨マーカー等)における MSI 及び LOH を Multiplex PCR-Gene にて検索する。

### ③ 免疫組織化学染色

残りのパラフィン切片を用いて細胞周期関連蛋白、*H. pylori*、LAT1(L-type amino acid transporter 1)、DNA ミスマッチ修復蛋白等の免疫組織化学染色を施行する。

### ④ 臨床病理学的事項の検索

若年胃癌の臨床病理学的事項(性別、組織型、発生部位、腫瘍系、予後等)を検索し、非若年胃癌と比較する。

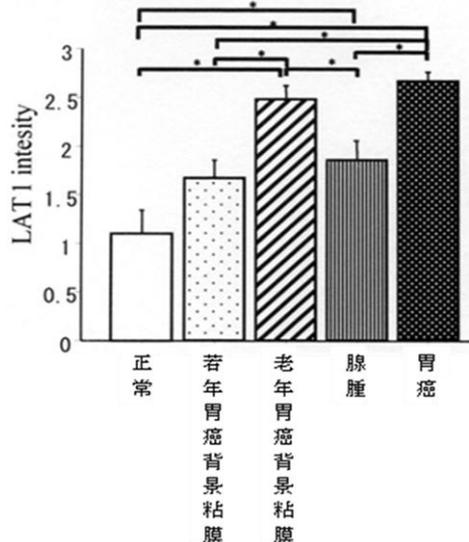
## 4. 研究成果

### ① 若年胃癌の背景粘膜

背景粘膜の炎症の程度を Sydney 分類にて若年胃癌 32 症例・非若年胃癌 21 症例で比較したところ、予備検討と同様に若年胃癌は、非若年胃癌に比して有意に好中球浸潤が見られ、粘膜萎縮や腸上皮化生の頻度が低いことが分かった(P<0.05)。

さらに癌部以外の背景粘膜においても腫瘍型アミノ酸トランスポーターと考えられている LAT1 の発現が確認され、正常粘膜に比して高い発現を示している傾向が見られた (P=0.084)。老年者の胃癌背景粘膜における LAT1 発現は、若年胃癌背景粘膜に比して有意に高値を示した (Figure 1, 雑誌論文①)。

Figure1  
正常粘膜、若年胃癌背景粘膜、老年胃癌背景粘膜、腺腫、胃癌における LAT1 intensity



※ : P<0.05

また若年胃癌・非若年(老年)胃癌共に Helicobacter Pylori 感染が免疫組織化学染色にて高頻度で確認されたが、共に感染頻度は 80%以上で有意差は見られなかった。菌塊の量についても有意差は見られなかった。

### ②ゲノム不安定性・免疫組織化学染色

MSI 及び LOH の検索を行うため、癌部・非癌部(背景粘膜)の上皮・間質及びリンパ節(コントロール)における DNA を若年胃癌 32 症例、非若年胃癌 21 症例抽出した。

抽出した DNA を用いて Multiplex PCR-Gene Scan 法にて LOH・MSI を検索したが、PCR がうまくかからない症例が多く、今回の研究では若年胃癌と非若年胃癌のゲノム不安定性等の差異は確認できなかった。

ミスマッチ修復蛋白である hMLH1・hMSH2 の発現を検討した所、若年胃癌における hMLH1 の発現の減少・消失頻度は 32 例中 8 例(25%)で、非若年胃癌は 21 例中 7 例(33%)であり、頻度が若干低い傾向はあったが、有意差はなかった。

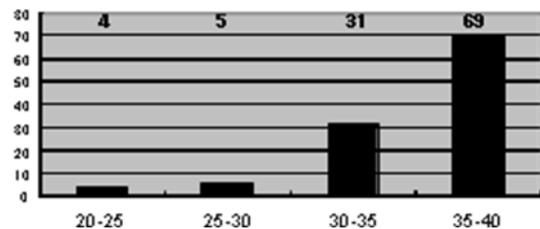
低分化型腺癌は分化型腺癌に比して hMLH1 の発現の減少・消失症例が有意に多かった(未分化型: 33 例中 18 例、分化型: 20 例中 5

例、P<0.05)が、若年胃癌と非若年胃癌で分類した場合は、分化型腺癌と未分化型腺癌における hMLH1 の発現に有意差は得られなかった。

hMSH2 の発現の減少・消失は若年胃癌・非若共に低頻度であった。また Ki-67 や p21 の発現は、腫瘍細胞数 1000 個当たりの陽性細胞数を Labeling index (LI) として算出したが、若年胃癌・非若年胃癌間に有意差は見られなかった。

### ③若年胃癌の臨床病理学的特徴

若年胃癌は胃癌 2314 例中 116 例で、当施設では胃癌全体の 5.0%の割合を占めていた。さらに年齢別に見てみると下図に示す通りで、35-40 歳代が全体の約 6 割を占めていた。

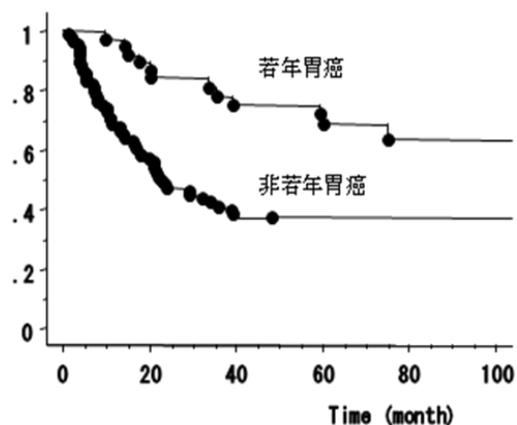


(若年胃癌の年齢別割合)

男女比は 1(58):1(58)で、非若年胃癌(男女比約 7:3)に比して有意に女性の発症頻度が高かった。早期癌は 54 例、進行癌は 62 例であった。組織型は、非若年胃癌に比して低分化型腺癌が有意に多く(116 例中 92 例, 79.3%)。肉眼形態は Borr5 型が有意に多いという結果が得られた(116 例中 25 例, 21.6%)。腫瘍長径は平均で 5.1cm という結果であった。

さらに若年胃癌と非若年胃癌の予後を検索したところ、下図 (Figure 2) に示す生存曲線が得られ、若年胃癌は、非若年胃癌に比して統計学的に有意に予後が良好であるという結果が得られた (P<0.05)。

Figure 2. 生存曲線



5. 主な発表論文等

(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 1 件)

①Ichinoe M, Mikami T, Yoshida T, Igawa I, Tsuruta T, Nakada N, Anzai N, Suzuki Y, Endou H, Okayasu I. High expression of L-type amino-acid transporter 1 (LAT1) in gastric carcinomas: Comparison with non-cancerous lesions. Pathol Int. 査読あり 2011 May; 61(5):281-9.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

一戸 昌明 (ICHINOE MASAOKI)

北里大学・医学部・講師

研究者番号 : 80365163