

216. タイプ別胃癌の発癌・進展における分子機序の解明

山本 学

国際医療福祉大学 福岡看護学部

Key words : 胃癌, タイプ別, 特性, 予後

緒 言

胃癌の分子学的発生機序は4つのタイプに分類されることが近年わかってきたものの [1, 2]、その精細は未だ不明な点が多い。一方、21世紀に入り乳癌はタイプ別の治療が確立しており、さらに、最近では大腸癌においてもタイプ別の治療が確立されつつある。本研究は、胃癌の発がんタイプ別の各遺伝子群とマイクロサテライト不安定性に着目し、胃癌のタイプ別治療への発展に役立てることを目的とした。我々は、以前より胃癌のミスマッチ変異が多発胃癌や高齢者胃癌、分化型胃癌に多く認められたことを報告した [3]。また、放射線障害によりミスマッチ変異が起こり、胃癌の発生に関与すると考えられた [4]。また、ゲノム安定性胃癌に関わる家族性胃癌においても報告を行ってきた [5]。今回、胃癌組織を用いて4つのタイプに分類したのち、Epstein-Barr Virus 陽性胃癌、マイクロサテライト不安定性胃癌、ゲノム安定性胃癌、染色体不安定性胃癌の特性と予後を検討した。その結果、病理学のおよび免疫組織学的手法を用いて4つのタイプ別に分類可能であった。さらに、予後は Epstein-Barr Virus 陽性胃癌>マイクロサテライト不安定性胃癌>染色体不安定性胃癌>ゲノム安定性胃癌の順であった。

方 法

1. 症例と検体

2005年から2010年までに進行胃癌の診断で手術にて摘出された胃癌切除標本103例を対象として、病理学のおよび免疫染色組織検査を用いてタイプ別に分類した。尚、研究は当施設および国立病院機構九州がんセンター倫理委員会にて承認されている。

2. Epstein-Barr Virus 陽性胃癌

組織学的 (HE 染色) および EBER 抗体 (ライカ社) を用いて、免疫組織学的に検討した。

3. マイクロサテライト不安定性胃癌

MLH1、PMS2、MSH2、MSH6 (ロッシュ社) の4種類の抗体を用いて、免疫組織学的に検討した。2つ以上陰性を示したものをマイクロサテライト不安定性と判定し、1個以下をマイクロサテライト安定性と判定した。

4. ゲノム安定性胃癌

組織学のおよび E-cadherin (ロッシュ社) の抗体を用いて、免疫組織学的に検討した。

5. 染色体不安定性胃癌

上記以外の胃癌をこの分類とした。また、p53の抗体 (ロッシュ社) を用いて、免疫組織学的に検討した。

6. 統計解析

統計解析は、JMP ソフトウェア・バージョン 12.0 (Macintosh 版、SAS 社、Cary) を用いて行った。

結果

1. タイプ別分類

Epstein-Barr Virus 陽性胃癌は 103 例中 9 例 (8.7%) であった。マイクロサテライト不安定性胃癌は 103 例中 11 例 (10.7%) に認めた (図 1)。ゲノム安定性胃癌は、103 例中 23 例 (22.3%) に認め、E-Cadherin 蛋白の欠失を 23 例中 8 例 (34.8%) に認めた (図 2)。それ以外の 60 例 (58.3%) を染色体不安定性胃癌とした。

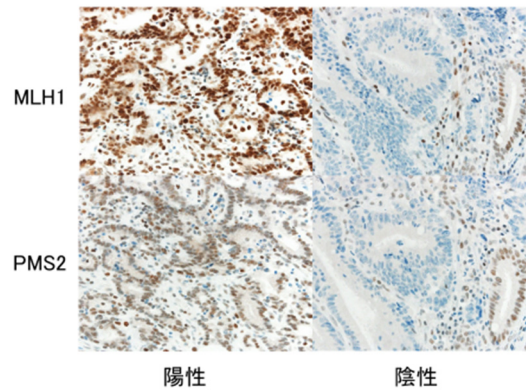


図 1. マイクロサテライト不安定性 (MLH、PMS2 の欠失)

MLH1、PMS2、MSH2、MSH6 の 4 種類の抗体にてマイクロサテライト不安定性を判定した。
左側が陽性例、右側が陰性例

E-Cadherin蛋白

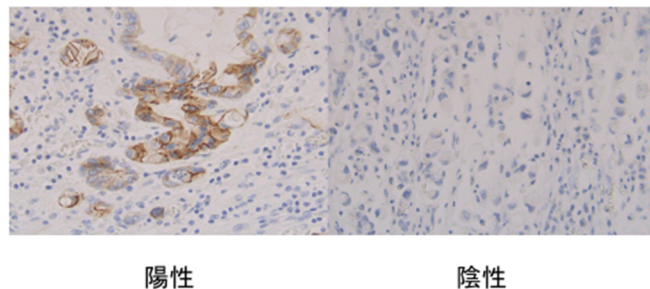


図 2. E-Cadherin 蛋白の欠失

左側が陽性例、右側が陰性例

2. 染色体不安定性胃癌に対する p53 蛋白の検討

染色体不安定性胃癌に関して p53 蛋白を検討したところ、65.0%が p53 異常であった。

3. タイプ別の臨床病理学的検討および予後

タイプ別の背景および予後を検討したところ、タイプ別胃癌の平均年齢は Epstein-Barr Virus 陽性胃癌で 57.3 ± 5.8 、マイクロサテライト不安定性胃癌で 69.2 ± 12.3 、ゲノム安定性胃癌で 59.0 ± 9.2 、染色体不安定性胃癌で 66.5 ± 10.2 歳であった。マイクロサテライト不安定性胃癌は、Epstein-Barr Virus 陽性胃癌およびゲノム安定性胃癌に対して有意に高齢であった ($p < 0.05$)。また、性別においてゲノム安定性胃癌は男女比 0.9、染色体不安定性胃癌の男女比 5.0、Epstein-Barr Virus 陽性胃癌の男女比 3.5 であり、ゲノム安定性胃癌は有意に女性に多く ($p < 0.05$)、Epstein-Barr Virus 陽性胃癌および染色体不安定性胃癌は男性に多く認められた。

さらに、4 タイプ別の予後を検討したところ、Epstein-Barr Virus 陽性胃癌 > マイクロサテライト不安定性胃癌 > 染色体不安定性胃癌 > ゲノム安定性胃癌であった ($p < 0.05$) (図 3)。

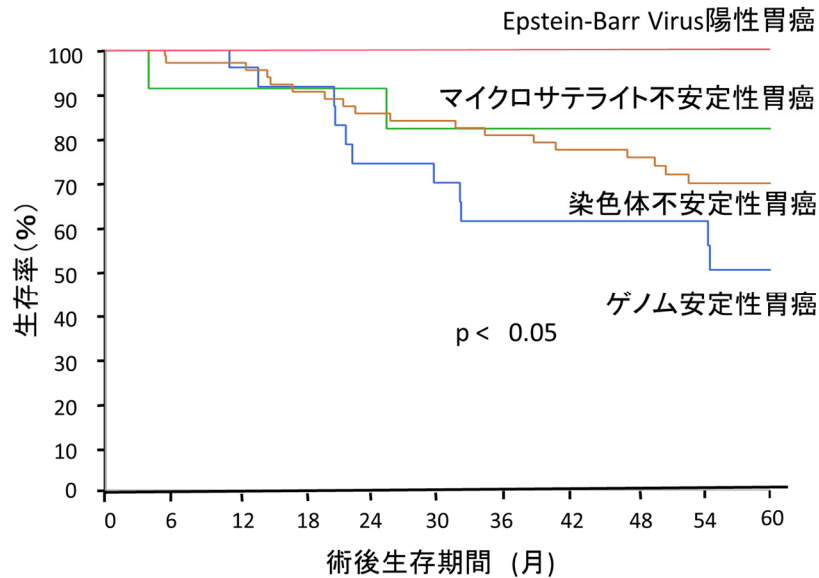


図3. タイプ別胃癌の予後比較

Epstein-Barr Virus 陽性胃癌は、他のタイプに比べて予後が良好であった。

考察

2014年にTCGAによる胃癌の解析で、エクソーム解析、DNAメチル化アレイ解析、染色体コピー数解析、RNAシークエンス解析の結果、4種類のサブタイプに分類された [6]。今回、病理学および免疫組織学的手法を用いて、4つのタイプ別胃癌に分類することが可能であった。さらに、これらのタイプは、明らかに予後の相違を認めた。

Epstein-Barr Virus 陽性胃癌は、予後良好なタイプである。Epstein-Barr Virus 感染により癌抑制蛋白であるp16/CDKN2Aなどのプロモーター領域のメチル化が認められるとの報告があることから [7]、p16/CDKN2Aの解析を今後、行う予定である。

マイクロサテライト不安定性胃癌においては、高齢者に多く、比較的予後良好なタイプである。現在下流シグナルのPIK3CAの変異およびメチル化を検討中である。また、マイクロサテライト不安定性に対する分子標的剤もあり、その効果に期待が懸かる。

ゲノム安定性胃癌タイプは、特に若年者に多く、予後不良なタイプである。びまん性胃癌に関与しておりE-Cadherin以外にRHOA遺伝子変異が関与していると考えられている [8]。現在、RHOA遺伝子の解析を行っている。

染色体不安定性胃癌のタイプは、癌抑制遺伝子p53変異が高率に生じていた。また、喫煙や慢性炎症などの刺激によりDNAのメチル化が強く関与している。最近では、Globalなメチル化がp53変異を起こすことを報告し、Globalなメチル化とten-eleven translocation enzyme (TET2)が相関していた [9]。今後、喫煙や慢性炎症などの刺激によるDNAのメチル化を精細に解析する予定である。DNAのメチル化を解析することで、選択的なDNA脱メチル化剤などがこのタイプの治療候補になると考えられた。

共同研究者・謝辞

本研究の共同研究者は、国立病院機構九州がんセンター病理部の田口健一先生であり、先生に多くの病理学的解析、免疫組織学的染色の解析をしていただき、厚く御礼を申し上げます。

文 献

- 1) Cristescu R, Lee J, Nebozhyn M, Kim K-M, Ting JC, Wong SS, Liu J, Yue YG, Wang J, Yu K, Ye XS, Do I-G, Liu S, Gong L, Fu J, Jin JG, Choi MG, Sohn TS, Lee JH, Bae JM, Kim ST, Park SH, Sohn I, Jung S-H, Tan P, Chen R, Hardwick J, Kang WK, Ayers M, Hongyue D, Reinhard C, Loboda A, Kim S & Aggarwal A. Molecular analysis of gastric cancer identified subtypes associated with distinct clinical outcomes. *Nat Med.* 2015 May;21(5):449-56. doi: 10.1038/nm.3850.
- 2) Sohn BH, Hwang JE, Jang HJ, Lee HS, Oh SC, Shim JJ, Lee KW, Kim EH, Yim SY, Lee SH, Cheong JH, Jeong W, Cho JY, Kim J, Chae J, Lee J, Kang WK, Kim S, Noh SH, Ajani JA, Lee JS. Clinical significance of four molecular subtypes of gastric cancer identified by the cancer genome atlas project. *Clin Cancer Res.* 2017 Jul 26. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-2211.
- 3) Yamamoto M, Taguchi K, Baba H, Endo K, Kohnoe S, Okamura T, Maehara Y. Loss of protein expression of hMLH1 and hMSH2 with double primary carcinomas of the stomach and colorectum. *Oncology Rep* 16:41-47, 2006. PMID: 16786121
- 4) Yamamoto M, Taguchi K, Yamanaka T, Matsuyama A, Yoshinaga K, Tsutsui S, Ishida T. Outcome and status of microsatellite stability in Japanese atomic bomb survivors with early gastric carcinoma. *Ann Surg Oncol.* 2013 Mar;20(3):798-803. doi: 10.1245/s10434-012-2567-0
- 5) 松山純子、山本学、田口健一、上江洌一平、河野浩幸、吉田大輔、南一仁、池部正彦、森田勝、藤也寸志. 183個の同時性多発性病変を認めた若年者胃癌症例. *日本消化器外科雑誌* 50 (5) ,357-363,2017. doi.org/10.5833/jjgs.2016.0063
- 6) Cancer Genome Atlas Research Network: Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. *Nature.* 2014 Sep 11;513(7517):202-9. doi: 10.1038/nature13480.
- 7) Vo QN, Geradts, Gulley ML, Boudreau DA, Bravo JC, Schneider BG. Epstein-Barr virus in gastric adenocarcinomas: association with ethnicity and CDKN2A promoter methylation. *J Clin Pathol* 55 (9) :669-75, 2002. doi: 10.1136/jcp.55.9.669
- 8) Maeda M, Ushijima T. RHOA mutation may be associated with diffuse-type gastric cancer progression, but is it gain or loss? *Gastric Cancer* 19:326-328, 2016. doi: 10.1007/s10120-015-0525-9
- 9) Murata A, Baba H, Ishimoto T, Miyake K, Kosumi K, Harada K, Kurashige J, Iwagami S, Sakamoto Y, Miyamoto Y, Yoshida N, Yamamoto M, Oda S, Watanabe M, Nakao M, Baba H. TET family proteins and 5-hydroxymethylcytosine in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncotarget* 6 (27) :23371-23382, 2015. doi: 10.18632/oncotarget.4281