

平成22年3月

松岡宏至 学位論文審査要旨

主 査 村 脇 義 和
副主査 池 口 正 英
同 林 一 彦

主論文

消化性潰瘍患者の背景胃粘膜における癌抑制遺伝子プロモーター領域の異常メチル化頻度の検討

(著者：松岡宏至、原田賢一)

平成22年 米子医学雑誌 掲載予定

学 位 論 文 要 旨

消化性潰瘍患者の背景胃粘膜における癌抑制遺伝子プロモーター領域の異常メチル化頻度の検討

$p16^{INK4A}$ 、 $hMLH1$ 、 $RUNX3$ 、 $CDH1$ 、 $CDH13$ などの癌抑制遺伝子の不活化は、種々の発癌に関与していると考えられている。胃癌組織でもこれら癌抑制遺伝子の不活化が認められ、その主因は突然変異よりもプロモーター領域の異常 DNA メチル化が強く関与している。胃癌患者では胃癌組織だけでなく、背景胃粘膜においても複数の癌抑制遺伝子のメチル化が認められている。また、*Helicobacter pylori* (HP) 感染を伴う非癌患者の胃粘膜の検討でも癌抑制遺伝子のメチル化が認められ、胃粘膜での癌抑制遺伝子のメチル化と HP との関連が示唆されている。一方で、複数の疫学的報告から、胃潰瘍 (GU) 患者からの発癌は認めるが、十二指腸潰瘍 (DU) 患者からの発癌は少ないことが分かっている。消化性潰瘍患者の多くは HP 感染を伴っているにもかかわらず、GU 患者と DU 患者で発癌頻度に差を認めている。本研究ではこれら消化性潰瘍患者の背景胃粘膜における癌抑制遺伝子プロモーター領域の異常メチル化を解析し、GU 患者と DU 患者の違い、HP 感染との関連を検討した。

対 象 と 方 法

鳥取大学医学部附属病院で上部消化管内視鏡検査を行い GU、DU、胃十二指腸潰瘍 (GDU) と診断した 76 名を対象とした。診療目的での通常の上部消化管内視鏡検査を行った際に、胃前庭部大彎および胃体部大彎より生検にて背景胃粘膜を採取した。メチル化の検出は、胃粘膜より DNA を抽出し、メチル化及び非メチル化に特異的プライマーを用いて、methylation-specific PCR (MSP) 法により増幅した後、電気泳動し、紫外線下に可視化し確認した。検討した癌抑制遺伝子は、 $p16^{INK4A}$ 、 $hMLH1$ 、 $RUNX3$ 、 $CDH1$ 、 $CDH13$ とした。DNA メチル化との関連について検討した項目は、年齢、性別、HP 感染の有無、HP 除菌療法の有無、改訂シドニー分類を用いた慢性胃炎の程度とした。

結 果

メチル化は $p16^{INK4A}$ 、 $RUNX3$ 、 $CDH13$ で認められたが、 $hMLH1$ 、 $CDH1$ では全例で認めなかった。このうち $p16^{INK4A}$ メチル化の頻度が 40~56.3%と最も高頻度に認められたが、GU 群と DU 群との間で差を認めず、また胃前庭部と胃体部との比較でも頻度に差は認めなかった。

ただ $p16^{INK4A}$ のメチル化は HP 感染例でメチル化の頻度が有意に高く、胃粘膜の炎症の程度が強くなるほどメチル化の頻度が高くなることが認められた。 $RUNX3$ のメチル化は 3.3~18.8%の頻度で、 $CDH13$ のメチル化は 3.3~25%の頻度で認められた。ただ、 $RUNX3$ 、 $CDH13$ とも HP 感染の有無、炎症の程度とメチル化の頻度との間に関連は認めなかった。 $p16^{INK4A}$ メチル化の頻度は GU 群及び DU 群とも、炎症の程度が強くなるにつれメチル化の頻度が増す傾向にあった。GU 群では HP 陽性例で有意に $p16^{INK4A}$ メチル化の頻度が高く、DU 群では HP 感染と $p16^{INK4A}$ メチル化の頻度に関連は認められなかった。HP 除菌成功例と HP 感染例における $p16^{INK4A}$ メチル化の頻度の比較では、HP 除菌成功例で有意にメチル化頻度が低く、GU 群と DU 群の検討では GU 群で同様の傾向を認めたが、DU 群では症例数が少なく検討できなかった。

考 察

GU 群と DU 群とも高頻度に $p16^{INK4A}$ メチル化を認めたが、全体として頻度に差を認めなかった。したがって $p16^{INK4A}$ のメチル化の頻度の差によって GU 群と DU 群での胃発癌の差を説明することは困難であった。ただ、HP の感染の有無により GU 群と DU 群での $p16^{INK4A}$ のメチル化を検討すると、GU 群で $p16^{INK4A}$ メチル化と HP 感染との間に関連が示されたが、DU 群ではメチル化と HP 感染との間に関連は認めなかった。したがって、この差が GU 症例、DU 症例の胃発癌の差に関与している可能性が示唆された。一方で、胃粘膜における DNA のメチル化の程度を定量的に解析し、メチル化の蓄積が胃発癌のリスクと相関しているとの報告がある。今後定量的な解析を行うことで、GU 群、DU 群との間にメチル化の蓄積としての何らかの差が認められる可能性がある。 $p16^{INK4A}$ のメチル化は HP 除菌成功例において有意に $p16^{INK4A}$ メチル化の頻度が低く、HP 感染は $p16^{INK4A}$ メチル化を誘発し、除菌により改善することが示唆された。

結 論

今回の検討で $hMLH1$ 、 $CDH1$ でメチル化を検出できなかったが、 $p16^{INK4A}$ 、 $RUNX3$ 、 $CDH13$ でメチル化を認めた。GU 群と DU 群とでこれら遺伝子のメチル化の頻度に差を認めなかった。このうち $p16^{INK4A}$ メチル化は GU 群で HP 感染及び、胃粘膜の炎症が高度な例で高頻度に認めた。一方、DU 群では、HP 感染と関連がなかった。GU 群では、HP 除菌によりメチル化の頻度が低下することが示唆された。今回のメチル化頻度の解析では、GU 群と DU 群での胃発癌リスクを説明できなかったが、両病態でメチル化因子に若干の違いを認めた。