

学 位 論 文 題 名

Establishment of an experimental mouse model for
gastric tumors and analysis of pepsinogen 1-altered
pyloric glands (PAPG) as preneoplastic lesions
in the mouse stomach

（マウス腺胃発癌モデルの確立と前癌病変マーカーとしての
Pepsinogen 1変異幽門腺の解析）

学位論文内容の要旨

癌発生のメカニズムの解析と、そこから明らかとなる知見を利用した治療法の開発および化学予防法の確立のために、実験動物モデルは非常に重要な存在である。胃癌は日本をはじめアジアの国々などで高い頻度で認められ、このためすぐれた胃発癌モデルの確立が望まれてきた。1967年にラットにおいて *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine (MNNG)を用いた腺胃発癌モデルが確立されて以来、ハムスター、フェレット、イヌなど様々な動物において MNNG による胃癌が誘発されることが明らかとなった。マウスはトランスジェニックマウス、ノックアウトマウス、キメラマウスなど遺伝子や胚操作が容易であり、実験動物として有用であるが、MNNG に感受性が認められず、長年、腺胃発癌モデルの確立ができないうままであった。本研究ではマウスにおける腺胃発癌モデルを *N*-methyl-*N*-nitrosourea (MNU) 飲水投与方法によって確立し、その特徴と有用性について検討した。

MNU 飲水投与方法によって C3H/HeN マウスに高率に腺胃癌が誘発できることが示された。MNNG で誘発されるラットの腺胃癌のほとんどが高分化型であるのに比べて、マウス MNU 誘発腺胃癌では、高分化型腺癌のみならず低分化型腺癌や印環細胞癌が認められ、組織型がヒトに似た多様性を持つことが明らかとなった。また、マウス胃の高分化型腺癌は細胞の悪性度が高く、粘膜内でも腺腫との識別が容易なものがあり、このマウス腺胃発癌モデルは早期癌発癌過程の進展過程の解析にも応用できると考えられた。

Pepsin の前駆体のひとつである Pepsinogen 1 (Pg1)の発現が減少もしくは消失している幽門腺 (Pepsinogen 1-altered pyloric glands : PAPG) は、MNNG 誘発ラット腺胃発癌過程で前癌病変として知られている。マウスの MNU 誘発腺胃発癌過程における Pg1 発現を検索したところ、PAPG は腫瘍性病変が認められる前の早い段階で認められた。短期観察の PAPG 発生率と長

期観察における腺腫や腺癌の発生率は、ともに MNU の濃度に依存していた。PAPG の細胞増殖活性は Pg1 発現が正常な周囲幽門腺に比べて高いこと、Pg1 発現の低下は腺腫、腺癌といった腫瘍性病変においても一貫して認められることが確認され、マウスにおいても PAPG は腺胃発癌過程での前癌病変となることが確認された。短期間での検索が可能である PAPG は、腺胃発癌過程の検索において有用な指標となると考えられた。

6 系統のマウス：BALB/cA、C57BL/6N、CBA/JN、C3H/HeN、DBA/2N および CD-1 に
おいて MNU による発癌感受性を検索した。短期観察の PAPG の発現と長期観察の腫瘍の発生率
については、最も PAPG 発生率が高い BALB/cA で発癌率が最も高く、CD-1 はともに最も低か
った。今回用いたすべてのマウス系統で認められたすべての腺腫と腺癌では、Pg1 の染色性が消
失もしくは減少していた。これらにより、PAPG は多くのマウスにおいて早期検索が可能な MNU
誘発腺胃発癌の前癌病変であることが示唆された。一方、Intestinal alkaline phosphatase (I-
ALP)陽性細胞は、非腫瘍性病変および腫瘍性病変ともに病変のごく一部に観察され、腺胃前癌病
変であるとは考えられなかった。本実験で検索した 6 系統のマウスすべてに MNU 飲水投与によ
る腺胃癌が誘導され、このモデルは系統によらずマウス腺胃発癌の解析に利用できることが示さ
れた。

癌抑制遺伝子 *p53* の変異はヒトの様々な癌で最も多く報告されている遺伝子変異のひとつであ
る。また *p53* ノックアウトマウスは、近年、化学物質の発癌性リスクを検討するうえでの有効性
が注目されている。そこで次の実験では、*p53*(-/-)と *p53*(+/-)、および *p53*(+/+)マウスの腺胃
発癌モデルにおける MNU 感受性を検索した。*p53*(-/-)マウスでは、5 週観察期間の PAPG 発生
率、15 週観察期間の発癌率がともに有意に高値であり、高い MNU 感受性を示した。40 週観察期
間におけるリンパ腫や肉腫などによる途中死亡は *p53*(+/-)において多く認められたが、*p53*(+/-)
と *p53*(+/+)の間の腺胃発癌率に有意な差は認められなかった。*P53*(-/-)、(+/-)、および(+/+)
のすべての *p53* 遺伝子型マウスに認められた腺胃腫瘍について、PCR-SSCP 法によって *p53*
exon5-8 の遺伝子検索をおこなったが、*p53* 遺伝子の変異は検出されず、*p53*(+/-)マウスのリン
パ腫と肉腫では *p53* の変異が確認された。これらの結果より、MNU 誘発マウス腺胃発癌におい
て *p53* は MNU の直接の標的遺伝子ではないが、遺伝子が傷ついた細胞を排除する“gate keeper”
として重要な役割を果たしていることが示唆された。

本研究から、マウスに MNU を飲水投与することによって、ノックアウトマウスを含む数多く
のマウス系統において腺胃に腫瘍を誘発できることが明らかとなった。また、PAPG は、マウス
においての MNU 誘発腺胃発癌の前癌病変であることが示された。本研究で確立されたマウス腺
胃発癌モデルと前癌病変 PAPG は、腺胃発癌過程の研究ならびに胃癌の予防・治療法開発への応
用など、胃癌の病理学的研究において非常に有用であると考えられた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 梅 村 孝 司

副 査 教 授 藤 田 正 一

副 査 教 授 昆 泰 寛

副 査 教 授 土 井 邦 雄 (東京大学)

学 位 論 文 題 名

Establishment of an experimental mouse model for gastric tumors and analysis of pepsinogen 1-altered pyloric glands (PAPG) as preneoplastic lesions in the mouse stomach

(マウス腺胃発癌モデルの確立と前癌病変マーカーとしての

Pepsinogen 1変異幽門腺の解析)

胃癌は日本をはじめアジア各国で高い頻度で認められ、早期診断法や予防治療法開発のためにすぐれた胃癌モデルの開発が望まれている。マウスは遺伝子や胚操作が容易であり、実験動物として有用であるが、未だ胃癌モデルが確立されていない。本研究ではマウスの腺胃発癌モデルを N-methyl-N-nitrosourea (MNU) 飲水投与法によって確立し、その特徴と有用性について検討した。

MNU 飲水投与法によって C3H マウスに高率に腺胃癌が誘発できること、MNU 誘発腺胃癌はヒトに似た多様な組織型を持つことを示した。

MNU 投与マウスの腺胃粘膜における Pepsin の前駆体 Pepsinogen 1 (Pg1) 発現を検索したところ、Pg1 の発現が減少もしくは消失している幽門腺 (Pepsinogen 1-altered pyloric glands : PAPG) は腫瘍性病変が認められる前に MNU 濃度依存性に認められ、かつ様々な腫瘍性病変に一貫して認められたことから、PAPG は腺胃癌の前癌病変であることが確認された。さらに、6 系統のマウスにおいて MNU による発癌感受性を検索したところ、すべての系統で同様な結果が得られた。

癌抑制遺伝子 *p53* の変異はヒトの様々な癌で報告されており、化学物質の発癌性リスクを検討するうえで *p53* ノックアウトマウスは有用である。そこで、*p53* (-/-) と *p53* (+/-)、および *p53* (+/+)マウスの腺胃発癌モデルにおける MNU 感受性を検索した結果、*p53* は MNU の直

接の標的遺伝子ではないが、遺伝子が傷ついた細胞を排除する” gate keeper” として重要な役割を果たしていることが示唆された。

本研究によってマウス腺胃発癌モデルが確立され、その前癌病変も明らかにされた。よって、審査員一同は、上記学位論文提出者山本昌美氏が博士（獣医学）の学位を授与されるに十分な資格を有するものと認めた。