

審査の結果の要旨

氏名 竹内 千尋

非乳頭部十二指腸上皮性腫瘍の発生機序や予後・治療選択に関わる分子機構は未だ解明されていない。本研究では、内視鏡生検検体を用いた非乳頭部十二指腸上皮性腫瘍の網羅的 mRNA/miRNA 発現解析を行った。発現解析の妥当性を評価すると共に、基礎的・病理学的検討を加え、非乳頭部十二指腸上皮性腫瘍の病態解明と腫瘍発症機序を解明しようとしたものであり、下記の結果を得ている。

1. 非乳頭部十二指腸上皮性腫瘍において内視鏡的生検検体を用いた mRNA/miRNA の発現解析を行った。Real time RT-PCR を用いた妥当性の評価により、生検検体であっても十分に正確性が担保された microarray の解析結果であることが示された。microarray から得られた解析結果を用いて GSEA を用いた検討を行うと、非乳頭部十二指腸上皮性腫瘍は、大腸腫瘍との遺伝子発現と類似している可能性が示唆された。
2. miR-135b-5p は APC 遺伝子の mRNA を target とすることが複数のアルゴリズムから予測された。細胞株を用いて miR-135b-5p を安定持続発現させると、APC タンパクの発現が抑制されることを確認した。そして TOPFLASH を用いたレポーターアッセイでは最終的な Wnt シグナルの亢進を確認することができたが、AXIN2 の転写発現による評価では差を認めなかった。また同じく安定持続発現させた細胞株から抽出した RNA を用いて網羅的発現解析を行うと、KEGG の pathway 解析において miR-135b-5p が Wnt pathway を亢進させることにより腫瘍化を促進させる可能性が示唆された。
3. ホルマリン固定パラフィン包埋された非乳頭部十二指腸上皮性腫瘍検体を用いた免疫染色の結果から、 β -catenin は腫瘍部において著明に蓄積傾向を認め、GESA において APC 遺伝子、Wnt pathway との関連が示された結果は妥当と考えられた。miR-135b-5p についても腫瘍で発現上昇する傾向を確認したが、 β -catenin の異常集積と有意な関連を示すことはできなかった。特に非乳頭部十二指腸上皮性腫瘍においては、APC 遺伝子変異が少ないことが確認され、 β -catenin の蓄積に関与する因子として miR-135b-5p の関与が考えられた。

以上、本研究は内視鏡生検検体を用いた網羅的遺伝子解析の結果から、非乳頭部十二指腸上皮性腫瘍においては大腸腫瘍と同様に **Wnt pathway** の関連が示唆され、特に **miR-135b-5p** については、**APC** タンパクの発現を抑制し **Wnt** シグナルの最終産物である **TCF/LEF** 複合体の発現量が増加していることが示された。病理検体を用いた免疫染色においても、**APC** タンパクの発現抑制によると考えられる **β -catenin** の蓄積と **miR-135b-5p** の発現上昇が確認された。特に **APC** 遺伝子変異について調べると大腸腫瘍にと比較して非乳頭部十二指腸上皮性腫瘍では頻度が少ない傾向にあり、非乳頭部十二指腸上皮性腫瘍においては **APC** 遺伝子変異によらない **miRNA** による **Wnt** シグナル亢進の可能性が示唆された。非乳頭部十二指腸上皮性腫瘍の分子機構の解明を更に発展させる可能性が考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。