

学 位 論 文 要 旨

氏名 渡邊 公紀

論 文 題 目

Fucosylation is associated with the malignant transformation of intraductal papillary mucinous neoplasm: a lectin microarray-based study.

(フコシル化は IPMN の悪性化に関連する：高感度レクチンマイクロアレイを用いた検討)

要 旨

[緒 言]

膵管内乳頭粘液性腫瘍 (intraductal papillary mucinous neoplasm, IPMN) は膵管内に乳頭状に発育進展し、通常豊富な粘液産生と膵管拡張像を特徴とする膵嚢胞性腫瘍性病変である。IPMN 腺腫から非浸潤癌、微小浸潤癌、さらに浸潤癌へと悪性化する可能性がある。また、糖鎖は細胞表面に発現しており、癌化によりその構造を変化させ、増殖、浸潤・転移などの機能に関与することが指摘されている。我々は、糖鎖を認識するレクチンマイクロアレイを用いて、大腸癌、胃癌において糖鎖構造変化を網羅的に解析し報告してきた。今回、高感度レクチンマイクロアレイ法を用いて、IPMN の糖鎖構造変化を網羅的に解析し、糖鎖構造変化と悪性化との関連性を検討した。

[研究対象および方法]

当院で手術を施行した IPMN で癌を伴う 22 例を対象とした。ホルマリン固定組織から正常膵管、腺腫、癌部を laser captured microdissection (LCM) を用いてそれぞれを均一量となるように採取した。糖鎖を認識する 45 種類のレクチンを固層化した lec chip と反応させ、GlycoStation による数値化、データ統合を行った。更に、得られた結果から糖鎖構造変化に関与するフコース転移酵素 (fucosyltransferase 8, Fut 8) の発現を免疫染色にて検討した。

[結 果]

レクチンマイクロアレイ法にて 45 個のレクチンのうち、3 群比較にて有意差のあるレクチンは 22 個であった。そのうち、正常膵管から癌に進むにつれ漸増しているレクチンは、単糖のフコースの結合を認識するレクチン AAL (*Aleuria aurantia lectin*), AOL (*Aspergillus oryzae L-fucose-specific lectin*) の 2 つであり、癌部は正常膵管組織と比較して、有意に上昇していた ($p = 0.015, 0.006$)。さらに、レクチン AAL, AOL は $\alpha 1, 6$ -フコースに高い結合性を示すため、 $\alpha 1, 6$ -フコース転移酵素である Fut 8 にて免疫染色しスコア化し検討したところ、Fut8 は、正常膵管に比べ、腺腫部、癌部では有意な上昇を認め (共に $p < 0.001$)、癌化に伴い発現が亢進していた。




[考 察]

レクチンマイクロアレイ法にて、IPMN は癌化に伴い、フコシル化を認識するレクチン AAL, AOL が上昇していること、さらに、免疫染色にて $\alpha 1-6$ フコース転移酵素である Fut8 の発現が癌化に伴い亢進することが認められた。フコシル化は癌の増殖、浸潤・転移に関わる糖鎖構造変化の 1 つであり、膵癌においても組織や血清でのフコシル化の変化が報告されている。さらに、他癌種においてフコシル化に関与する Fut8 が亢進していることも報告されている。IPMN を含めた粘液性膵嚢胞に関しては、フコシル化の亢進が報告されているが、IPMN の組織でのフコシル化および Fut8 に関する報告は今回が初めてである。




[結 語]

Fut8 によるフコシル化が IPMN の悪性化に関与していることが示唆された。

学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・論	第 556 号	氏名	渡邊公紀
審査委員会委員	主査氏名	杉尾賢二 	
	副査氏名	横山繁生 	
	副査氏名	伊波英克 	
<p>論文題目 Fucosylation is associated with the malignant transformation of intraductal papillary mucinous neoplasm: a lectin microarray-based study. (フコシル化は IPMN の悪性化に関連する：高感度レクチンマイクロアレイを用いた検討)</p> <p>論文掲載雑誌名 Surgery Today (Accepted: 26 November 2015)</p> <p>論文要旨 膵管内乳頭粘液性腫瘍 (intraductal papillary mucinous neoplasm, IPMN) は膵管内に乳頭状に発育進展し、通常豊富な粘液産生と膵管拡張像を特徴とする膵嚢胞性腫瘍性病変である。今回、高感度レクチンマイクロアレイ法を用いて、IPMN の糖鎖構造変化を網羅的に解析し、糖鎖構造変化と悪性化との関連性を検討した。 当院で手術を施行した IPMN で癌を伴う 22 例を対象とした。ホルマリン固定組織から正常膵管、腺腫、癌部を laser captured microdissection(LCM)を用いてそれぞれを均一量となるように採取した。糖鎖を認識する 45 種類のレクチンを固層化した lec chip と反応させ、GlycoStation による数値化、データ統合を行った。更に、得られた結果から糖鎖構造変化に関与するフコース転移酵素 (fucosyltransferase 8, Fut 8) の発現を免疫染色にて検討した。 レクチンマイクロアレイ法にて 45 個のレクチンのうち、3 群比較にて有意差のあるレクチンは 22 個であった。そのうち、正常膵管から癌に進むにつれ漸増しているレクチンは、単糖のフコースの結合を認識するレクチン AAL (Aleuria aurantia lectin), AOL (Aspergillus oryzae L-fucose-specific lectin) の 2 つであり、癌部は正常膵管組織と比較して、有意に上昇していた。さらに、レクチン AAL, AOL は α1,6-フコースに高い結合性を示すため、α1,6-フコース転移酵素である Fut 8 にて免疫染色しスコア化し検討したところ、Fut 8 は、正常膵管に比べ、腺腫部、癌部では有意な上昇を認め、癌化に伴い発現が亢進していた。 IPMN は癌化に伴い、フコシル化を認識するレクチン AAL, AOL が上昇していること、α1,6 フコース転移酵素である Fut 8 の発現が癌化に伴い亢進することが認められた。フコシル化は癌の増殖、浸潤・転移に関わる糖鎖構造変化の 1 つであり、膵癌においても組織や血清でのフコシル化の変化が報告されている。IPMN を含めた粘液性膵嚢胞に関しては、フコシル化の亢進が報告されているが、IPMN の組織でのフコシル化および Fut 8 に関する報告は今回が初めてである。これらの結果から、申請者は、Fut 8 によるフコシル化が IPMN の悪性化に関与していると示唆している。</p> <p>本研究は、IPMN におけるフコシル化および Fut 8 発現を初めて解析し、その悪性化への関与を示唆したものであり、学術上ならびに临床上においても意義あるものと考えられ、審査委員の合議により本論文は学位論文に値するものと判定した。</p>			

最終試験
の結果の要旨
~~学力の確認~~

審査区分 課・論	第556号	氏名	渡邊公紀
審査委員会委員	主査氏名	杉尾賢二 	
	副査氏名	横山繁生 	
	副査氏名	伊波英克 	
<p>学位論文申請者は本論文の公開審査を行い、各審査委員から研究の目的、方法、結果、考察について以下の質問を受けた。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 正常導管上皮は量的に少ないので腫瘍組織と比較しにくいと考えるが、比較する時の単位は何か。 2. evanescent-field fluorescence scanner はどのような原理の機器か。 3. LecChip で45種の lectin が検索されているが、これで糖鎖を網羅的に検索したと言えるか。 4. これら45種の lectin で検出される既知の糖鎖抗原腫瘍マーカーはあるか。 5. 1990年からの標本であることからかなり古いものが含まれているが、その生体試料(病理標本)の蛋白の保存状態の信頼性についての検証はなされているのか。 6. 検体の保存方法が厳密に同一条件下に行われていることが、定量性を与える意味で非常に重要なポイントと思われるが、実験プロトコルは明文化されているのか。 7. FUT8の過剰発現を免疫染色で確認されているが、転写レベルでの上昇を定量化するために最近の標本でRNAを抽出してRT-PCRを行ったことはあるか。今後行う予定はあるか。 8. Table 1には、AOL, AAL以外にもLTLのように有意に漸増するlectinがあるが、それらを除外した理由は何か。 9. PanINや通常の膵導管癌でも同様の結果が出ると思われるが、より頻度の少ないIPMNを使った理由は何か。また、通常の膵導管癌でも行ったか。 10. 腺癌におけるFut8の高発現は、悪性化の原因なのか、結果なのか。 11. AOL, AAL以外にも同一の糖鎖構造を認識するレクチンはあるが、今回有意差は出なかった理由はどのように考えられるか。 12. フコシル化の機序、悪性転化(malignant transformation)との関連を説明せよ。 13. Lectin, FUT8の発現が、細胞接着因子や増殖因子への関与を考察しているが、その詳細を説明せよ。 14. 囊胞液中や血液中でのFut8の検出が有用であろうとの考察をしているが、血液中での検出の根拠はあるのか。臨床的にどう考えるのか。 <p>これらの質疑に対して、申請者は概ね適切に回答した。よって審査委員の合議の結果、申請者は学位取得有資格者と認定した。</p>			

(注) 不要の文字は2本線で抹消すること。