HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	唾液腺導管癌における遺伝子発現解析と発症機序に関する検討［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	鈴木, 崇祥
Description	配架番号：2388
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第13009号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/70822
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Takayoshi_Suzuki_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称　博士（医　学）　氏 名　鈴木　崇祥

学 位 論 文 題 名

唾液腺導管癌における遺伝子発現解析と発症機序に関する検討

（The study of gene expression of salivary duct carcinoma and its onset-mechanism）

【背景と目的】

唾液腺導管癌は、病理組織学的に浸潤性乳管癌に類似した特徴を有する高悪性度唾液腺癌の一亜型であり、その病態、発生、悪性化の機序に関しては未だ解明されておらず、現時点で有効な薬物療法は存在しない。

近年、乳癌と同様にヒト成長因子受容体 2 型(HER2)タンパク質の過剰発現が、唾液腺導管癌においても高頻度に認められている。Di Palma らにより HER2 およびアンドロゲン受容体(AR)免疫染色プロファイルに基づいた分類による有用性が提唱されているが、予後予測や個別化治療への臨床応用にまでは至っていない。さらなる病態解明は、抗 HER2 抗体トラスツズマブ（ハーセプチン®）などをレジメンに含んだ治療の臨床応用に寄与しうると期待される。

また、唾液腺導管癌はその発生母地により、正常唾液腺組織より発生する de novo 型と既存の多形腺腫組織内より発生する多形腺腫由来型の 2 パターンに分類されており、発生様式の違いにより発生学的機序が異なる可能性がある。

今回我々は、唾液腺導管癌症例における免疫染色および遺伝子発現プロファイルを評価・解析を行った。また、発生様式の違いに着目し、比較検討を行った。さらに既報文献にて示された知見をもとに、唾液腺導管癌の発生機序および de novo 型と多形腺腫由来型の発生機序の相違に関する考察を行った。

【対象と方法】

北海道大学病院耳鼻咽喉科にて 1989 年から 2015 年までの間に初回治療を行った唾液腺導管癌 23 症例を対象とした。対象症例 23 例のホルマリン固定パラフィン包埋ブロック切片に対して免疫染色（HER2, AR, EGFR, Ki-67, CK5/6, PLAG1）および HER2/CEN17 Dual color in situ Hybridization による評価を行った。また評価可能であった 19 例に対して RT²Profiler™ PCR Array Human Breast Cancer キットを用いて quantitative-realtime-PCR を施行し、78 遺伝子に対して遺伝子発現解析を行った。具体的には、1) 多型腺腫特異的免疫染色マーカーPLAG1 を用いた発生様式（de novo 型および多型腺腫由来型）の再定義、2) 免疫染色（HER2, AR, EGFR, Ki-67, CK5/6）および HER2/CEN17 Dual color in situ Hybridization によるサブタイピング（HER2-positive 群・Luminal-AR 群・Basal-like 群）と発生様式間の比較検討、3) 唾液腺導管癌における遺伝子発現の評価、4) 免疫染色に基づいた分類（HER2-positive 群・Luminal-AR 群・Basal-like 群）と遺伝子発現プロファイルとの関係、5) 発症様式（de novo 型/多形腺腫由来型）間の遺伝子発現に関する比較検討を行った。

【結果】

1) PLAG1 免疫染色による de novo 型と多形腺腫由来型の生物学的再分類

全例において多型腺腫由来型非上皮系細胞に PLAG1 陽性所見を認めた。上皮系細胞には PLAG1 陽性所見は認める症例は見られなかった。

2) 免疫染色・Dual in Situ Hybridization に基づいた唾液腺導管癌の新分類

Di Palma 分類に準じた分類にて、HER2-positive 群： 10 例（多型腺腫由来型: 9 例、de novo 型: 1 例）、

Luminal-AR 群： 7 例（多型腺腫由来型: 3 例、de novo 型: 4 例）、Basal-like 群： 6 例（多型腺腫由来型: 2 例、de novo 型: 4 例）の結果を得た。多形腺腫由来型においては非 HER2-positive 群に比して HER2-positive 群が有意に多く認められた（Fisher's exact test: p-value = 0.029）。

3) 唾液腺導管癌における遺伝子発現

唾液腺導管癌全体では、*VEGFA, CDKN1A, CTSD, AKT1, MMP2* などで高発現を認め、*APC, SLIT2, CDH13, FOXA1, ID1* などは低発現であった

4) Di Palma 分類と遺伝子発現プロファイルとの関係

サブタイピングマーカー遺伝子計 14 遺伝子のうち、9 つの遺伝子で Di Palma 分類間における遺伝子発現の有意差を認め、Di Palma 分類が遺伝子発現プロファイルを適切に反映することを支持する結果であった。

5) 唾液腺導管癌の発症様式間の遺伝子発現プロファイルの相違に関する検討

ERBB2, IGF1R, PTEN, RB1, SLIT2, VEGFA, XBP1 において、de novo 型および多形腺腫由来型間で遺伝子発現の有意差を認めた。*ERBB2, IGF1R, RB1, VEGFA, XBP1* においては多形腺腫由来型優位の遺伝子発現を認め、*PTEN, SLIT2* においては de novo 型優位の遺伝子発現を認めた。

【考察】

乳癌と同様、唾液腺導管癌においても複数の entity（HER2-positive 群、Luminal-AR 群、Basal-like 群）の存在が強く示唆され、多形腺腫由来型において有意に HER2-positive 群が多い傾向を認めた。

唾液腺導管癌、特に多型腺腫由来型において、血管新生および(ERBB2)-AKT-PI3K シグナル経路に関与する遺伝子群の高発現を認め、自己分泌 VEGFA シグナル伝達ループの亢進による(ERBB2)-AKT-PI3K-VEGFR シグナル経路の活性化が強く疑われた。

また、本研究では、既報文献の報告とは異なり、多型腺腫由来型唾液腺導管癌細胞自体には PLAG1 染色像を認めず、残存多型腺腫間質を構成する非上皮系細胞における PLAG1 染色像を認めた。PLAG1 は IGF-II および VEGFA 生成に対して促進的に作用することが知られている。本研究においては VEGFA の高発現を認めることから、間質の多型腺腫成分由来の PLAG1 が VEGFA を介して、血管新生や悪性転化のトリガーとして作用する可能性があることが示唆された。

【結論】

- 免疫染色および PCR array による機能的網羅遺伝子発現解析により、乳癌と同様、唾液腺導管癌においても複数の entity（HER2-positive 群、Luminal-AR 群、Basal-like 群）の存在が強く示唆された。
- 唾液腺導管癌多形腺腫由来型において有意に HER2-positive 群が多い傾向が伺えた。
- 唾液腺導管癌、とくに多形腺腫由来型に関して、i) 自己分泌 VEGFA シグナル伝達ループの亢進による AKT-PI3K-VEGFR シグナル経路の活性化、ii) 多形腺腫 PLAG1 が VEGFA 等を介して腫瘍発生、悪性転化のトリガーとなっている可能性などの腫瘍発生メカニズムの関与が示唆された。