



Title	胆嚢癌におけるゲノムおよび遺伝子発現解析による分子分類 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	江畑, 信孝
Description	配架番号 : 2657
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14742号
Issue Date	2021-12-24
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/83852">https://hdl.handle.net/2115/83852</a>
Rights(URL)	<a href="https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</a>
Type	doctoral thesis
File Information	Nobutaka_Ebata_abstract.pdf, 論文内容の要旨



## 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 江畑信孝

### 学位論文題名

胆嚢癌におけるゲノムおよび遺伝子発現解析による分子分類

#### 【背景と目的】

胆嚢癌は非常に予後不良な疾患であるにも関わらず、その分子特性の解明は十分ではない。そこで包括的な分子分類をおこなうことで胆嚢癌の新しいターゲットとなりうる因子の解明や分類を明らかにすることができると考えた。

#### 【対象と方法】

2004年1月から2018年9月までの間で北海道大学消化器外科教室 II にて手術を施行した胆嚢癌患者検体を用いて、全ゲノムシーケンス (WGS) を 13 例に、全エクソームシーケンス (WES) を 26 例に施行、トランスクリプトーム解析 (ノンコーディング RNA を含む RNA-seq) を 37 例の胆嚢癌で施行した。また、同期間に切除を行った 8 例の肝門部胆管癌においてトランスクリプトーム解析を施行した。胆嚢癌のうち 37 例は凍結検体を用い、2 例は PAX gene® で保管した検体を用いた。肝門部胆管癌については 8 例とも凍結検体を用いた。

間質および免疫反応については免疫染色でも検証した。

#### 【結果】

トランスクリプトーム (RNA-seq) データのクラスター分析では、胆嚢癌を 2 つのサブクラスに分類することができた。これらは間質関連遺伝子の発現レベルの高低によって特徴付けられていた。間質関連遺伝子が強く発現していた群は実際に免疫染色で間質に富む腫瘍であることが確認され、統計学的有意に予後が不良で、再発率が高いことが判明した。さらに GSEA (Gene Set Enrichment Analysis) によって、上皮間葉転換 (EMT) に関与する遺伝子発現の上昇が有意であることも明らかになった。また、予後不良群は免疫関連遺伝子の発現も上昇しており、EMT の既知のレギュレーターの一つである非コーディング RNA の miR125B1 は、間質優位な腫瘍で発現の上昇を示し、胆嚢癌細胞株 2 種類を用いた miR125B1 ノックアウト群の浸潤アッセイで、浸潤能力の低下が示された。

変異プロファイルでは、最も一般的な変異は TP53 (47%) で、次に ELF3 (13%) が続いた。ARID1A、DST、および ERBB3 の変異は、間質優位な腫瘍グループでのみ観察された。さらに TGF- $\beta$  シグナリングに関連する遺伝子群の変異が予後不良群で多く認められた。

#### 【考察】

今回の解析で明らかになったクラスターは、胆嚢癌において T 因子や N 因子とは独立した予後規定因子であることが判明した。T や N が低い比較的早期癌にも予後不良な群に含まれる胆嚢癌があることが判明し、EMT に関連する遺伝子群の発現上昇を認めて、組織学的に腫瘍微小環境に間質が多いことが明らかになった。間質が多い群では miR125B1 が優位に発現上昇しており、これをノックアウトした胆嚢癌細胞株では浸潤能が低下したことから、治療標的になりうる可能性が示唆された。また、TGF- $\beta$  シグナルパスウェイ関連遺伝子群の変異が腫瘍微小環境を誘発するこ

とが示唆された。

#### 【結論】

胆嚢癌の包括的な解析によって、腫瘍微小環境における、EMT、および TGF- $\beta$  経路の変化が胆嚢癌の主な促進因子であることを示した。EMT 関連遺伝子発現の程度や免疫抑制に関与する腫瘍微小環境の状態に基づいた新規分類を提示した。さらにその新規分類において予後不良群において EMT 関連遺伝子群や TGF- $\beta$  関連遺伝子群が有意に上昇しており、新たな治療標的の可能性のある因子として miRNA125B1 を見出した。これらが胆嚢癌診療における予後予測や治療方針の決定に有用な可能性がある。