

## 論文の内容の要旨

氏名：藤 澤 真理子

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：インターフェロン関連分子を中心とした膵管癌における RNA 発現解析

【背景と目的】膵管癌は年々増加傾向にあるが、予後不良な癌の一つである。早期段階で膵管癌を検出する方法や有効な治療法は確立されておらず、病因と発癌機序に関してより詳細な検討が必要である。前癌病変の一つとして Pancreatic intraepithelial neoplasia (PanIN) が知られており、PanIN から段階的に遺伝的変異を獲得して膵管癌が発生するとされているが、PanIN と癌部での RNA 発現の違いに関しては報告が少ない。本研究では、高感度な次世代シーケンサーによる RNA-Seq を用いて膵癌手術時に作成した Formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) 標本の非癌部と PanIN、癌部の RNA 発現に関して網羅的に解析した。膵管癌の発生・予防の方法論を確立し、臨床に応用可能な知見を得ることを目的とした。また、ヒト膵癌細胞株を用い *in vitro* でさらに機能解析を行い、膵管癌の診療に応用可能な知見を得ることを目的とした。

【対象と方法】2016年5月から2017年12月までの間に当院で外科的手術を受けた5例のFFPE標本から Laser microdissection 法を用いて正常膵管上皮と PanIN および膵管癌をそれぞれ切り出し、次世代シーケンサーによる RNA-Seq を行った。RNA-Seq から得られた遺伝子を Ingenuity pathways analysis (IPA) で評価し、さらに RNA-Seq で抽出されたシグナル伝達経路について、ヒト膵癌細胞株 (Panc-1 および SUIT-2) での RNA 発現を PCR Array を用いて網羅的に検討した。また Tyrosine kinase inhibitor (TKI) による細胞増殖抑制作用とシグナル伝達経路関連分子との関連も評価した。

【結果】FFPE 標本のそれぞれの病変から抽出した RNA を用いた RNA-Seq の結果について、PanIN と癌部で比較し有意差を認めた遺伝子に関して IPA 解析を行ったところインターフェロン (IFN) シグナル伝達経路が抽出された。膵癌細胞株に IFN $\alpha$  を投与し PCR Array をおこなったところ TLR3 mRNA 発現が活性化されていた。また、ヒト膵癌細胞株において IFN $\alpha$  と TLR3 agonist である poly(I:C) によって TKI によって誘導される細胞増殖抑制作用が増強されていた。更に TLR3 のノックダウンにより IFN と TKI による細胞増殖抑制作用が減弱することを確認した。

【結論】FFPE 標本のそれぞれの病変から抽出した RNA を用いて RNA-Seq が可能であることを示した。さらに PanIN と癌部の RNA 発現を RNA-Seq 解析したところ、IFN シグナル伝達経路が抽出された。PanIN から癌への進展に IFN シグナル伝達経路が関与している可能性が示唆され、IFN シグナル伝達経路は膵管癌において治療標的であることを再確認した。また、ヒト膵癌細胞株においての検討で IFN 投与によって TLR3 を含む自然免疫シグナル伝達経路が活性化されていることを明らかにした。さらに IFN $\alpha$  や TLR3 アゴニストが TKI の作用を増強することも判明した。