

京都大学	博士 (医学)	氏名	川島 雅 央
論文題目	High-resolution imaging mass spectrometry reveals detailed spatial distribution of phosphatidylinositols in human breast cancer (高解像度質量顕微鏡にて明らかになったヒト乳癌組織中のフォスファチジルイノシトールの微細な空間分布)		
(論文内容の要旨) 乳癌組織中のリン脂質の組成変化が組織学的悪性度などと相関することが知られている。Phosphatidylinositol (PI)は主要なリン脂質の一つで、哺乳動物においては疎水性尾部にC18:0とC20:4の脂肪酸をもつPI(18:0/20:4)が大部分を占めるという特徴をもつ。PIが癌組織中でどのような分布を示すかは不明である。 Imaging mass spectrometry (IMS) は Matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI) を応用した技術で、 matrix を塗布した組織切片にレーザーを直接照射して分子をイオン化し、組織構築に対応した分子の分布を測定できる新しい質量分析法である。 本研究では高解像度IMSを用いて9例のヒト乳癌組織と1例の正常乳腺組織のPIの空間的分布の特徴を分析した。 1) 組織中のPIの分子同定 MALDI-MS/MS分析により、組織中に存在する脂肪酸組成が異なる10種類のPIを同定した。同定されたPIの組成は、組織中の領域毎に異なったパターンを示し、癌細胞の領域でPI(18:0/20:4)以外の分子種の割合が顕著に増加していた。同じ乳癌組織中でも間質領域では正常と比べ、組成の変動はほとんど見られなかった。 2) 癌特異的なPIの同定 癌特異的に変動するPIを絞り込むため、各PIについて間質領域に対する上皮領域への偏りを数値化し、階層的クラスタリングにて相関解析を行った。結果、乳癌症例はPI(18:0/18:1)が癌特異的に局在する群(G1)とPI(18:0/20:3)が癌特異的に局在を示す群(G2)の二群に分類された。PI(18:0/20:4)はG1では間質、G2では癌と間質に広く分布し癌特異的な局在を示さなかった。G2では4例中3例にリンパ節転移を認めたが、G1では1例も認めなかった。 3) PIで判別される異なる癌細胞集団 癌上皮領域のPI(18:0/18:1)とPI(18:0/20:3)の割合は症例ごとに有意な逆相関を示した。この二分子の分布は上皮領域中で相補的な配置を示してお互いに重なり合わない傾向にあり、PI(18:0/20:3)を発現する細胞集団は間質と近接する領域に偏在する傾向を示した。 4) 癌の発育進展とPI構成比の相関 同一切片上に存在する正常乳管、過形成、非浸潤癌、浸潤癌の領域に集積するPIの割合を比較し、癌の発育進展との相関を検討した。非浸潤癌に比べ浸潤癌でPI(18:0/20:3)の有意かつ顕著な上昇を認めた。以上の知見からPI(18:0/20:3)の増加は癌の浸潤転移と相関しうると結論付けた。			

<p>本研究では乳癌組織中で、PIの脂肪酸組成が変動していること、特に癌細胞中のPI(18:0/20:3)の増加が浸潤能という癌細胞の特定の表現型を反映する可能性を初めて指摘した。乳癌組織でPI(18:0/20:4)が増加していることが知られているが、それと異なるPIを同定できた理由として、10μmの高解像度測定により間質領域などに豊富に存在するPI(18:0/20:4)の干渉を解析過程で適切に除外できた点が大きいと考えられる。検討症例数が少なく今後の注意深い検討が必要であるが、PIの脂肪酸組成の変動に注目することで、従来は予測困難であった浸潤転移などの事象をより正確に予測できることが期待された。</p> <p>また、高解像度IMSは一測定で膨大な分子の空間情報が得られるため、しばしばその処理方法が問題になるが、マーカーとしての脂質を絞りこむための新たな解析モデルを提示したという点でも重要と考えられた。</p> <p>(論文審査の結果の要旨) 乳癌組織中のリン脂質の組成変化が組織学的悪性度などと相関することが知られているが、脂質の微細な組織内分布の把握は測定解析手法の限界から困難であった。本研究では、高解像度質量顕微鏡(イメージングマススペクトロメトリー)を用いて、フォスファチジルイノシトール(PI)の組織内分布の特徴を分析し、PIのバイオマーカーとしての可能性と高解像度IMSの臨床検体測定への応用可能性を検討した。 臨床検体でPIを安定して検出できる測定法を検討し、脂肪酸組成の異なる10種類のPIを検出・同定した。9例の乳癌組織と1例の正常乳腺組織のPIの分布を解析し、癌細胞にはPI(18:0/18:1)が多く含まれるもの、あるいはPI(18:0/20:3)が多く含まれるものがあることを見出した。PI(18:0/20:3)がPI(18:0/18:1)に比し相対的に多い症例4例の内3例にリンパ節転移を伴った。PI(18:0/20:3)の分布は間質近くに偏る傾向がみられた。同一切片上の解析では、非浸潤癌と浸潤癌ではPI(18:0/20:3)の組成が大きく異なった。また、乳癌細胞中の癌の浸潤に関連するPIの脂肪酸組成を明らかにし、本手法の臨床検体への応用可能性が示された。</p> <p>以上の研究は、ヒト乳癌組織中の脂質分布の解明に貢献し、脂質を標的としたバイオマーカーの開発に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成26年1月24日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>

要旨公開可能日： 年 月 日以降