

京都大学	博士（医学）	氏 名	胡 茜
論文題目	Homozygous deletion of <i>CDKN2A/2B</i> is a hallmark of iron-induced high-grade rat mesothelioma (<i>CDKN2A/2B</i> のホモ欠損は鉄誘発高悪性度ラット中皮腫の特徴である)		
(論文内容の要旨)			
ヒトにおいて悪性中皮腫はアスベスト曝露と関連しており、中でも鉄含有量の高いクロシドライトやアモサイトは発がん性が高いとされている。1989 年に京都大学において鉄化合物を腹腔内に投与することにより悪性腹膜中皮腫を発生させる系が開発された。今回、Fischer344 と Brown-Norway 系統の 4 週 F1 雄雌ラットを使用して、5mg 鉄/kg 体重の ferric saccharate を週 5 日間 1 2 週に渡って腹腔内投与した。これとは独立して nitrilotriacetate を週 5 日間 2 0 週に渡って腹腔内投与した。鉄投与群は雄 24 匹、雌 30 匹であり、対照群は雄 17 匹、雌 21 匹であった。実験は 26.7 ヶ月で終了した。Agilent 社の Rat Genome CGH Microarray 244A をゲノム解析に、同社の Whole Rat Genome Microarray G4131F を発現解析に使用した。鉄投与群のうち、雄の 67%、雌の 3%で生後 20 ヶ月を過ぎてから中皮腫を認めた。対照群では中皮腫の発生はなかった。生存率には有意な差は認められなかった。中皮腫は 2 群に分類可能であった。投与群雄 24 匹のうち、12 例では雄精巣周囲の tunica vaginalis から発生しており、そのうち 3 例では著明な腹腔内播種を認めた。これらは上皮型 (EM) であり低悪性度であった。5 例では、腹腔内上部から発生し、胃、膵、脾などの臓器を巻き込んでいた。これらは肉腫型 (SM) であり高悪性度であった。これらの腫瘍は免疫染色で podoplanin 陽性などヒトの中皮腫とほぼ同じ特徴を有していた。EM6 例と SM5 例のアレイ CGH 解析を行い、EM6 例と SM2 例の発現アレイ解析を行った。ゲノムの解析では EM では大きな変化は認められなかったのに対して、SM では広範な増幅や欠損を認めた。特に、4 例で <i>CDKN2A/2B</i> (p16, p15) のホモ欠損を認め、2 例で <i>ERBB2</i> を含む領域の増幅を認めた。発現は種々の遺伝子に変化を認めたが、<i>uromodulin</i> (<i>Umod</i>) に着目し、腫瘍における mRNA と蛋白の高発現を確認した。胎生早期の分化に関連する転写因子に着目すると、<i>DLX5</i>、<i>ONECUT1</i>、<i>Pax6</i> が高発現であることが判明した。本研究により、クロシドライトやアモサイトに含まれる鉄の 20 倍の鉄をラット腹腔内に投与したことになるが、発生時期は遅かった。著明な雌雄差を認め、性ホルモンあるいは解剖学的構造の関与あるいは特殊な細胞の存在が窺われる。中皮腫は低悪性度と高悪性度のものに明確に分類され、高悪性度のもののほとんど (80%) で <i>CDKN2A/2B</i> のホモ欠損を認めた。これはヒトの中皮腫の特徴とも合致する。<i>Uromodulin</i> は腎、精巣、脳などで産生されている。免疫抑制作用が腫瘍に有利な環境を与えていると考えられた。中胚葉・外胚葉特異的な転写因子の活性化も認めた。以上の研究は、アスベスト繊維がなくとも鉄化合物で中皮腫が発生することが確認された。したがって、本研究の結果は鉄過剰が <i>CDKN2A/2B</i> のホモ欠損を誘導することを強く示唆する。過剰鉄は中皮腫発癌において極めて重要な因子であり、局所鉄のコントロールが中皮腫発癌予防につながることを示唆された。			

（論文審査の結果の要旨） 悪性中皮腫の発生はアスベスト曝露と関連が深く、中でも高鉄含有量のクロシドライトやアモサイトの発がん性が高いとされる。今回、中皮腫発生における鉄の関与を評価するため、クロシドライトに含まれる鉄の 20 倍量相当のコロイド鉄をラット腹腔内に投与し、更に鉄キレート剤のニトリロ三酢酸を追加投与して、中皮腫を作製した。本モデルの中皮腫発生は雄優位で、肉眼的に 2 群に分類可能であった。投与群の雄 24 匹中、17 匹に中皮腫の発生を認めた。そのうち 12 例は精巣周囲から発生し、3 例で著明な腹腔内播種を認めた。これらは上皮型中皮腫 (EM) であり低悪性度であった。一方、5 例は腹腔内上部で発生し、胃、膵、脾などに浸潤を認めた。これらは肉腫型中皮腫 (SM) であり高悪性度であった。これらの腫瘍は免疫染色でヒト中皮腫と合致する所見を示した。EM6 例と SM5 例でアレイ CGH 解析を施行した。EM では変化は少なく、SM の 4 例で CDKN2A/2B のホモ欠損を認め、2 例で ERBB2 の増幅を認めた。これらのゲノム変化はヒト中皮腫と共通であり、中皮腫発生過程における鉄の重要性が示唆された。発現アレイ解析で uromodulin の高発現が EM で認められたので、さらに mRNA と蛋白レベルで発現の亢進を確認した。胎生早期の分化に係る転写因子の中では DLX5、ONECUT1、Pax6 が高発現であった。これらの分子は中皮腫の早期診断や治療標的候補として役立つことが期待される。 以上の研究は中皮腫発生機構の解明に貢献し、その早期診断法や治療法の開発に寄与するところが多い。 したがって、本論文は博士（胡 茜）の学位論文として価値あるものと認める。 なお、本学位授与申請者は、平成 2 1 年 1 2 月 2 5 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。			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			