

Andrey Bychkov 論文内容の要旨

主論文

Patterns of FOXE1 expression in papillary thyroid carcinoma by immunohistochemistry

(甲状腺乳頭癌における FOXE1 発現パターンの免疫組織学的検討)

Andrey Bychkov、Vladimir Saenko、中島 正洋、光武 範吏、Tatiana Rogounovitch、

Alyaksandr Nikitski、Florence Orim、山下 俊一

Thyroid, Jan 18 Epub, in press 2013 年

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科放射線医療科学専攻

(主任指導教員：山下 俊一 教授)

緒言

甲状腺癌は、世界中でその罹患率が上昇を続けており、最も頻度の高い内分泌系癌である。その中で、甲状腺乳頭癌 (PTC) が主たる病理組織型であり、全甲状腺癌の約 85% を占める。近年、PTC 発症リスクに関連する遺伝的な因子の発見が相次ぎ、この分野の研究が急速に進展してきた。我々の研究成果も含めていくつかの研究結果によると、*FOXE1* 遺伝子近傍の一塩基多型 (SNP) である rs965513、そして *FOXE1* 遺伝子中の 5' 非翻訳領域 (UTR) に位置する SNP である rs1867277 が、PTC の発症と強い相関を示す遺伝的な因子であることが同定された。このように、*FOXE1* の PTC 発症に関する遺伝的な関連が示唆されてきたものの、*FOXE1* 自身の腫瘍形成における役割・機能については全く未解明である。そこで本研究では、PTC 組織における *FOXE1* 免疫染色、SNPs 遺伝子型、臨床病理学的所見を総合的に検討することとした。

対象と方法

1977 年から 2011 年までに長崎大学病院で得られた 48 例の PTC に対する手術標本を用いて研究を行った。免疫組織学的染色には、ヤギ抗 *FOXE1* 抗体を用い、この抗体の特異性は、免疫に用いたペプチドでのブロッキングにより確認した。*FOXE1* スコアは、「染色の強度」に「染色された部分の比率」を乗じて算出した。このスコアを、細胞質と核と別々に算出し、これらはさらに腫瘍部、正常組織部、さらに各々は腫瘍の境界部

に近い部分と離れた部分（境界より 300 μm ）に分けて評価した。ホルマリン固定パラフィン包埋切片より DNA を抽出し、rs965513 と rs1867277 のジェノタイプは直接シーケンス法にて確認した。病理組織学的所見、臨床所見、遺伝子型を、多変量解析にて検討した。

結果

正常甲状腺組織では、FOXE1 は主として核に局在が見られた。これに対し、腫瘍部では FOXE1 の細胞質に優位な過剰発現が観察された ($p < 0.001$)。腫瘍細胞、正常細胞共に、境界に近い部位 ($< 300 \mu\text{m}$) での発現は、遠位部よりも強かった ($p < 0.001$)。FOXE1 の発現パターンは、腫瘍のサイズ、組織亜型、被膜の有無とは相関が見られなかった。rs965513 と rs1867277 の minor allele frequency (MAF) は、今までの報告通り、それぞれ 0.053、0.170 であったが、これら両 SNPs の間に連鎖不平衡 linkage disequilibrium (LD) の強い証拠は得られなかった ($D' = 0.21$)。多変量回帰解析の結果、境界領域にある腫瘍細胞の核内 FOXE1 の発現は、rs1867277 の遺伝子型 ($p = 0.037$)、腫瘍の多巢性 ($p = 0.032$) と独立して相関していることが明らかになった。さらに、被膜浸潤との関連も有意である傾向 ($p = 0.051$) が見られた。

考察

FOXE1 の過剰発現と細胞質への発現分布の変化は、PTC 腫瘍細胞において特徴的な所見であり、このことは、FOXE1 分子が PTC の病態に関与していることを示唆する。FOXE1 の発現量自体は、腫瘍組織であれ、隣接する正常組織であれ、境界からの距離に従って低下する。この境界領域における FOXE1 の過剰発現は、この部分での細胞の活発な活動に関係しているのかもしれない。しかしながら、細胞の増殖 (MCM2 に対する免疫染色によって確認)、腫瘍関連マクロファージ (同 CD68)、酸化ストレス (同 4-HNE) との関連は見られなかった。境界部腫瘍細胞における核内 FOXE1 発現に関しては、FOXE1 遺伝子の 5'UTR に位置する rs1867277 のリスクアレル (c.238G>A)、そして多巢性や被膜浸潤等の腫瘍の悪性度との相関が認められ、遺伝子型と表現型との間に関連があることが示唆された。これら今回得られた結果を勘案すると、FOXE1 は、腫瘍・宿主間の接合点において、癌発生の初期段階から腫瘍形成の促進に何らかの役割を果たしている可能性が示唆された。