

## 論文の内容の要旨

論文提出者氏名	衣川康弘
論文審査担当者	主査 本田孝行 副査 栗田浩・花岡正幸
論文題目  Promoter hypomethylation of SKI in autoimmune pancreatitis (自己免疫性膵炎における SKI 遺伝子プロモーター領域の脱メチル化)	
(論文の内容の要旨) <p>【はじめに】自己免疫性膵炎 (autoimmune pancreatitis ; AIP) は原因不明の炎症性疾患であり、IgG4 高値を血清学的特徴とする代表的な IgG4 関連疾患である。また、病理学的に病変組織へのリンパ球、形質細胞浸潤および花筈状線維化を呈することが特徴である。さらに近年、AIP と発癌との関連性も報告されている。慢性炎症と発癌の関連性としては、潰瘍性大腸炎や慢性膵炎などにおいて発癌に関連する遺伝子にエピジェネティック変異一つである DNA メチル化異常が生じることが知られており、DNA メチル化異常は慢性炎症組織における発癌過程に関与していると考えられている。しかし、慢性炎症性疾患である AIP における発癌関連遺伝子の DNA メチル化異常の解析は報告がほとんどない。本研究では AIP における網羅的メチル化アレイ解析の結果を基に選定した、SKI についてプロモーター領域の CpG island におけるメチル化状態を解析した。SKI はトリレトロウイルス (v-SKI) の形質転換タンパクとして同定され、TGF-<math>\beta</math>/Smad シグナル伝達経路を負に制御する因子である。我々はさらに AIP における SKI のメチル化状態についての再検証や臨床病理学的な検討を加えた。</p> <p>【材料・方法】AIP 10 例、膵癌によって生じた閉塞性膵炎 (obstructive pancreatitis area (area はいるのか) in pancreatic ductal adenocarcinoma : PDA) 14 例、正常膵 (normal pancreas : NP) 4 例を用い、マクロダイセクションしたホルマリン固定パラフィン包埋切片から DNA を抽出し、bisulfite 処理をした後、イルミナ Infinium Human Methylation 450K BeadChip によって網羅的なメチル化状態のアレイ解析を行った。その結果、がん遺伝子の一つである SKI (Sloan-Kettering Institute) 遺伝子が、AIP においてプロモーター領域に高度な脱メチル化を生じていることが判明した。</p> <p>そこで我々は AIP 10 例、PDA 14 例、NP 9 例を用いて再検証を行った。方法はマクロダイセクションしたホルマリン固定パラフィン包埋切片から DNA を抽出し、bisulfite 処理をした後、定量 Methylation Specific PCR (MSP)法を実施した。結果をもとに相対定量法を用いてメチル化率を算出した。さらに、AIP の病理組織における SKI の発現について免疫組織化学を用いて解析した。染色性の評価は染色強度 (0: 陰性、1: 弱陽性、2: 中等度陽性、3: 強陽性) を示す intensity score (IS)と強拡大一視野の陽性細胞割合 (0: 陰性、1: &lt;10%、2: 10-50%、3: &gt;50%) を示す percentage score (PS)を 0-3 に分類し、IS と PS の和から staining-index (SI)を算出した。【結果】SKI メチル化率は AIP において 7.11% (3.35-18.45%)、PDA において 28.89% (14.87-35.15%)、NP において 60.55% (49.72-76.11%)を示し、PDA、NP に比して AIP において有意に低値であった (各 <math>p=0.0041</math>, <math>p=0.0011</math>)。免疫組織化学では AIP の膵腺房細胞および膵管上皮細胞、PDA の膵腺房細胞が陽性となった。NP において陽性は確認されなかった。また、SKI の SI は AIP において 4.0 (3.75-5.0)、PDA において 3.5 (2.75-5.0)、NP において 0 であった。AIP は NP に比して有意に高値を示した (<math>p=0.0001</math>) が、AIP と PDA における SI に有意差は認められなかった (<math>p=0.2610</math>)。SKI のメチル化率と SI には中等度の負の相関傾向が認められた (<math>r=-0.6142</math>, <math>p=0.0785</math>)。SKI のメチル化率と血清 IgG4 値には強い負の相関が認められた (<math>r=-0.8503</math>, <math>p=0.0075</math>)。また、SI と血清 IgG4 値では中等度の正の相関が認められた (<math>r=0.6739</math>, <math>p=0.0466</math>)。</p> <p>【考察】本研究から AIP において SKI プロモーター領域におけるメチル化率の低下とそれに伴う AIP の組織における SKI</p>	

の発現量増加が明らかとなった。AIPにおけるSKIの増加は、TGF- $\beta$ シグナル経路による細胞増殖抑制や転写活性機能を負に制御することで、AIPにおける腫瘍発生の一因となる可能性がある。さらに、本研究からエピジェネティック変異がその制御の一端を担っていることが示唆された。また、SKIメチル率と血清IgG4値との有意な負の相関は、SKIによるIgG4産生制御機構が存在する可能性を示唆し、SKIがAIPの病因に関与する可能性も認められた。しかし、SKIの慢性炎症やIgG4関連疾患、発癌過程における役割は明確には解明されず、今後のさらなる研究が望まれる。

