

氏 名	兼竹 博文
(ふりがな)	(かねたけ ひろふみ)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第38号
学位審査年月日	令和5年1月27日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題名	Short communication: Distribution of phospholipids in parotid cancer by matrix-assisted laser desorption/ionization imaging mass spectrometry (イメージング質量分析による耳下腺癌のリン脂質 の分布の解析)
論文審査委員	(主) 教授 矢野 貴人 教授 近藤 洋一 教授 萩森 伸一

## 学 位 論 文 内 容 の 要 旨

### 《目的》

唾液腺癌の中で最も多い耳下腺癌には様々な組織型があり、悪性度も様々である。その多様さ故に術前に悪性度や組織型を推定することは困難であり、悪性度に応じた適切な治療が難しい。したがって、悪性度に応じた適切な治療を行うために、耳下腺癌の早期診断、病理診断、予後推定法の改善が必要であり、そのための新たなマーカーが必要であると考えられる。

また、耳下腺癌はその希少性と組織型の多様性から、発癌機構は未だに不明である。近年、生体機能における脂質分子の役割が明らかになり、がんにおける脂質代謝が注目されている。脂質代謝は、細胞の分化や分裂などのプロセスに影響を与え、発がんにも関連す

ることから、リン脂質関連化合物が新たな腫瘍マーカーとなる可能性が示唆されている。

リン脂質の発現分布を検討する方法として、近年、マトリックス支援レーザー脱離イオン化イメージング質量分析法 (MALDI-IMS) の技術が進んでいる。イメージング質量分析法 (IMS) では、顕微鏡画像と質量分析データを重ね合わせて画像解析することで、多くの生体分子の分布を可視化することができる。MALDI-IMS は癌組織におけるタンパク質やリン脂質の局在の解析に用いられており、特定のリン脂質の分布が前立腺癌や乳癌の癌領域と非癌領域で有意に異なることが報告されている。さらに、これらのリン脂質が腫瘍マーカーとなる可能性も示唆されている。したがって、耳下腺癌にも特徴的なリン脂質が分布している可能性が考えられるが、耳下腺癌におけるリン脂質の分布に関する報告はない。本研究では、耳下腺癌におけるリン脂質の役割を見出すための第一段階として、MALDI-IMS を用いて、耳下腺癌組織における候補リン脂質の分布を網羅的に評価した。

#### 《対 象》

組織サンプルは、大阪医科大学附属病院（現：大阪医科薬科大学病院）で耳下腺癌の診断のもと手術を受けた初発例の患者2名（ケース1と2）の手術時摘出組織から採取した（大阪医科大学研究倫理委員会承認 承認番号 2020-211）。病理組織学的診断は腺房細胞癌および粘表皮癌であった。

#### 《方 法》

組織サンプルは、外科的切除後すぐに組織ブロックに切り出し、ただちに冷却したイソペンタンで凍結し、分析まで $-80^{\circ}\text{C}$ の冷凍庫で保存した。組織切片はクライオスタットを用いて $10\ \mu\text{m}$ の厚さに薄切した。IMS解析のために、各組織切片にマトリックスとして9-アミノアクリジン半水和物(9-AA)をコーティングした。試料の凍結切片は、MALDI-IMSを用いて正イオンおよび負イオンモードで評価し、 $m/z$ レンジは600–1000とした。腫瘍部分と非腫瘍部分で得られたマススペクトルを比較・分析した。腫瘍病変部のピーク特性に対応するイオンイメージを可視化した。

#### 《結 果》

MALDI-IMS を用いて腫瘍領域と非腫瘍領域のリン脂質の分布量の差異を解析した結果、

分布量が有意に異なるいくつかのリン脂質候補が検出された。腫瘍領域と非腫瘍領域の間で強度が大きく異なる脂質ピークの数、正イオンモードではケース 1 と 2 でそれぞれ 95 と 85、負イオンモードではケース 1 と 2 でそれぞれ 99 と 97 であった。さらに詳細な分布を視覚化するために画像化を行い、HE 染色による組織像と照らし合わせることで腫瘍部と非腫瘍部のリン脂質の分布に差異を認めることが明らかになった。これらのリン脂質は、癌病変部に不均一に分布していた。

#### 《 考 察 》

本研究では、MALDI-IMS を使用して耳下腺癌組織における脂質分子の分布を可視化した。その結果、リン脂質の組成が耳下腺癌腫瘍領域と非腫瘍領域の間で明らかに異なることを示唆している。また、耳下腺癌の異なる組織型に共通して分布の増加を認めたリン脂質候補も、特定の組織型でのみ分布の増加を認めたリン脂質候補も存在したことから、耳下腺の組織型、悪性度ごとに特徴的なリン脂質が分布していることが推定される。本研究結果は、MALDI-IMS が耳下腺癌の臨床研究のための新しい方法として有用である可能性を初めて示したものであり、今後耳下腺癌における脂質組成の変化をさらに調査することで、潜在的な診断、予後予測のバイオマーカーとしての応用が期待できると考える。

## 論文審査結果の要旨

本論文は耳下腺癌という希少性の高い癌について、これまで検討されたことがないリン脂質の分布に着目し検討を行っている。これまでもリン脂質と悪性腫瘍については様々な関連性が指摘されており、マトリックス支援レーザー脱離イオン化イメージング質量分析法 (MALDI-IMS) による癌組織とリン脂質分布の関連性についても幾多の先行研究が存在する。本研究は、耳下腺癌におけるリン脂質分布を初めて解析し、MALDI-IMS が耳下腺癌の臨床研究のための新しい方法として有用である可能性を示している。

本論文では、リン脂質の組成が耳下腺癌腫瘍領域と非腫瘍領域の間で有意に異なることが示され、組織型によらず耳下腺癌に共通して存在するリン脂質だけでなく、耳下腺癌の組織型、悪性度ごとに特徴的なリン脂質が分布していることも示されている。リン脂質の局在と組成の差異について明らかにしていることから、耳下腺癌におけるリン脂質の役割を見出すための第一段階としての網羅的評価を目的とした研究としては十分であると考えられる。今後、症例数を重ねていくことで耳下腺癌の悪性度や組織型によって特徴的なリン脂質の発現分布がさらに明らかになることが予想され、リン脂質の病理学的診断や予後予測のマーカーとしての有用性を示す結果が得られることも期待できる。本論文は、耳下腺癌とリン脂質の関係について今後の研究の方向性を示している。

以上により、本論文は本学大学院学則第 13 条第 1 項に定めるところの博士 (医学) の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

PLOS ONE 16(12): 2021,Dec

doi: 10.1371/journal.pone.0261491