



TITLE:

Rb and p53 Execute Distinct Roles in the Development of Pancreatic Neuroendocrine Tumors(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Yamauchi, Yuki

CITATION:

Yamauchi, Yuki. Rb and p53 Execute Distinct Roles in the Development of Pancreatic Neuroendocrine Tumors. 京都大学, 2021, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2021-05-24

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.r13418>

RIGHT:

京都大学	博士 (医 学)	氏 名	山 内 雄 揮
論文題目	Rb and p53 Execute Distinct Roles in the Development of Pancreatic Neuroendocrine Tumors. (Rb と p53 は、膵神経内分泌腫瘍形成において異なる役割を果たす)		
(論文内容の要旨)			
<p>膵神経内分泌腫瘍は、膵臓の上皮性悪性腫瘍で膵管癌に次いで 2 番目に多い腫瘍である。これまで、膵神経内分泌腫瘍において Rb、p53 pathway の関与を示唆する報告が複数あるが、腫瘍形成におけるそれぞれの役割は明らかでない。そこで、本研究では新たなモデルマウスを作成し、膵神経内分泌腫瘍形成における Rb、p53 それぞれの役割を解明する事を目的とした。</p> <p>まず、膵臓における Rb 遺伝子の役割を解析するために、マウスの膵臓特異的に Rb 遺伝子をノックアウトした <i>Pdx1-Cre;Rb^{fl/fl}</i> マウスを作成し、コントロールマウス (<i>Pdx1-Cre</i>) と比較検討した。すると、Rb 遺伝子のノックアウトは膵外分泌細胞の発生、維持には影響を与えなかったが、膵内分泌細胞では 2-8 カ月で α/β 細胞比がコントロールマウスと比べ低下し、18-20 カ月の長期観察において高分化な膵神経内分泌腫瘍を形成した。同様に、膵臓における p53 遺伝子の役割を解析するために <i>Pdx1-Cre;Trp53^{R172H}</i> マウスを作成しコントロールマウスと比較検討を行ったが、膵外分泌、内分泌細胞共に変化を認めず、長期観察においても腫瘍形成を認めなかった。これらから、Rb 遺伝子のノックアウトは膵内分泌細胞においてホルモン細胞分布の異常を引き起こし、さらに膵神経内分泌腫瘍を形成するイニシエーションの役割を果たすが、p53 遺伝子変異単独では膵臓の発生、維持に影響を与えない事が明らかとなった。</p> <p>次に、<i>Pdx1-Cre;Rb^{fl/fl}</i> マウスとコントロールマウス (<i>Pdx1-Cre</i>) より単離した膵島細胞から抽出した RNA に対してマイクロアレイによる網羅的発現解析を行った。その結果、コントロールと比較して <i>Pdx1-Cre;Rb^{fl/fl}</i> マウスの膵島細胞では p53 pathway の発現が有意に上昇していることが明らかとなった。</p> <p>そこで、<i>Pdx1-Cre;Rb^{fl/fl}</i> マウスの膵臓における p53 遺伝子の役割を検討する目的に <i>Pdx1-Cre;Trp53^{R172H};Rb^{fl/fl}</i> マウスを作成したところ、<i>Pdx1-Cre;Rb^{fl/fl}</i> マウスと比較し、4 カ月という短期間で高分化な膵神経内分泌腫瘍を形成した。また、<i>Pdx1-Cre;Rb^{fl/fl}</i> マウスと比較し、<i>Pdx1-Cre;Trp53^{R172H};Rb^{fl/fl}</i> マウスは、生存率が有意に低下している事、早期に腫瘍形成し、腫瘍の Ki67 標識率が有意に高い事 (2.7% vs. 24.7% $p=0.003$)、また一部で肝転移を認めた事より、より悪性度の高い腫瘍へと変化している事が明らかとなった。以上より、膵臓において p53 遺伝子変異は、Rb 遺伝子ノックアウト下で、より悪性度の高い腫瘍へと変化させる役割がある事が判明した。</p> <p>最後に、これら段階的に悪性化する膵神経内分泌腫瘍形成に関わる因子を、mTOR pathway に着目して免疫組織化学と定量的 PCR による発現検討を行った。その結果、変異 p53 が、mTOR pathway の負の制御因子である <i>Pten</i> や <i>Tsc2</i> の抑制を解除する事が明らかとなった。この結果から、<i>Pdx1-Cre;Rb^{fl/fl}</i> マウス、<i>Pdx1-Cre;Trp53^{R172H};Rb^{fl/fl}</i> マウスの腫瘍において、段階的に mTOR pathway の発現が上昇する事で悪性化に関与している事が判明した。</p> <p>以上より、膵神経内分泌腫瘍形成において Rb と p53 はそれぞれ腫瘍形成のイニシエーションと、悪性化の促進という異なる役割を果たすことが明らかとなった。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

膵神経内分泌腫瘍において Rb、p53 pathway の関与を示唆する報告があるが、腫瘍形成におけるそれぞれの役割は明らかでない。本研究では新たなモデルマウスを作成し、膵神経内分泌腫瘍形成における Rb、p53 それぞれの役割を解明する事を目的とした。

膵臓特異的に Rb 遺伝子をノックアウト、または変異 p53 遺伝子を導入したマウスを作成し解析した結果、Rb 遺伝子のノックアウトは膵内分泌細胞においてホルモン細胞分布の異常を引き起こし、さらに膵神経内分泌腫瘍を形成するイニシエーションの役割を果たすが、変異 p53 遺伝子単独では膵臓の発生、維持に影響を与えない事が明らかとなった。

次に膵臓特異的に Rb 遺伝子をノックアウトし、同時に変異 p53 遺伝子を導入したマウスを解析した結果、変異 p53 遺伝子は、Rb 遺伝子ノックアウト下で、より悪性度の高い腫瘍へと変化させる役割がある事が判明した。

最後に、これらの段階的に悪性化する膵神経内分泌腫瘍形成に関わる因子を、mTOR pathway に着目して検討を行った結果、変異 p53 遺伝子が *Pten* や *Tsc2* といった mTOR pathway の負の制御因子の抑制を解除し、mTOR pathway の発現を上昇させることで悪性化に関与している事が判明した。

以上の研究は膵神経内分泌腫瘍形成の解明に貢献し、疾患概念の理解や新規治療ターゲット探索に寄与するところが多い。

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。

なお、本学位授与申請者は、令和 3 年 3 月 19 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