

学 位 論 文 要 旨

氏 名 小泉 光仁

論 文 名 Epithelial-mesenchymal transition (EMT)誘導を介した膵癌進展
に及ぼす B cell-activating factor (BAFF)の作用

学位論文要旨

[背景と目的]

B cell-activating factor (BAFF)は、B細胞の活性化、生存維持や分化を促す。造血器腫瘍において血清 BAFF 濃度が上昇することや BAFF が造血器腫瘍の進展に関与することが報告されている。申請者らは自己免疫性膵炎症例において、血清 BAFF 濃度が上昇していることを報告した。また申請者らは進行した膵癌症例で血清 BAFF 濃度の高値を観察している。しかし上昇した BAFF が膵癌の病態に及ぼす影響については不明である。そこでヒト膵癌組織および膵癌細胞モデルを用いて、膵癌の進展に及ぼす BAFF の作用機序を明らかにすることを目的とした。

[材料と方法]

- 膵癌症例 44 例および健常人 44 例の血清を用いて BAFF および BAFF と相同性のある a proliferation-inducing ligand (APRIL)の血清濃度を ELISA で測定し、臨床背景との関連を比較検討した。
- 膵癌における BAFF および 3 種類存在する BAFF の受容体(BAFF-R、TACI、BCMA)について、手術時に得られたヒト膵癌組織を免疫染色して検討した。
- 膵癌細胞株 (PANC-1、BxPC-3、AsPC-1、MIA PaCa-2) を用いて *in vitro* の検討を行った。まず BAFF および BAFF の受容体発現を mRNA と蛋白量で確認した。
- BAFF の膵癌細胞に及ぼす影響をみるため、PANC-1 に BAFF を添加して膵癌細胞株の形態変化を観察した。
- 形態変化より推測される上皮間葉移行(epithelial-mesenchymal transition, EMT)に関連し

氏名 小泉 光仁

た遺伝子変化を mRNA と蛋白量で確認した。

6. EMT を介した運動能と浸潤能の変化を確認するため、BAFF を添加して wound hearing/scratch test および invasion assay を行った。
7. PANC-1 に BAFF-R を発現するプラスミドを遺伝子導入して BAFF-R を高発現させた膵癌細胞株クローンを複数作製した。その細胞株を用いて BAFF-R 高発現による EMT 関連遺伝子の変化を mRNA と蛋白量で確認した。また wound hearing/scratch test を行い、運動能の変化を検討した。

[結果と考察]

A. 膵癌症例および健常人における血清 BAFF 濃度の検討

- ① 膵癌症例の血清 BAFF 濃度は、健常人と比較して有意に上昇していた ($P = 0.0121$)。とくに遠隔転移のある膵癌症例において血清 BAFF 濃度が上昇しており、血清 BAFF 濃度と原発巣の腫瘍径の間には正の相関がみられた。膵癌症例と健常人の血清 APRIL 濃度に差はみられなかった。
- ② ヒト膵癌組織において膵癌細胞周囲に浸潤する B 細胞は BAFF が陽性であった。膵癌細胞では BAFF-R が陽性であり、TACI と BCMA は陰性であった。

B. 膵癌細胞株を用いた BAFF 作用の解析

- ③ 膵癌症例で増加した BAFF の膵癌細胞に対する役割を解析するため、膵癌細胞株を用いて実験した。用いた膵癌細胞株すべてに BAFF-R が発現していたが、TACI と BCMA は発現していなかった。
- ④ PANC-1 に BAFF を添加したところ紡錘状の形態変化がみられた。
- ⑤ 形態変化より EMT 関連遺伝子について検討したところ、PANC-1 への BAFF 添加により E-cadherin の発現が減少し、vimentin および転写因子である Snail の発現が増加した。
- ⑥ BAFF 添加により PANC-1 の運動能と浸潤能は亢進し、その変化は BAFF-R 阻害抗体を添加することにより抑制された。
- ⑦ PANC-1 に BAFF-R 発現プラスミドを導入して BAFF-R を高発現する膵癌細胞株クローンを複数作製した。その結果、それらの細胞株では BAFF-R のシグナル伝達経路である NF- κ B2 の活性化がみられ、BAFF 添加時と同様に E-cadherin の減少、vimentin および Snail の増加および運動能の亢進がみられた。

以上の結果から、以下のように考察した。BAFF は膵癌周囲に浸潤する B 細胞に発現し、膵癌細胞の BAFF-R に作用して、紡錘状の形態変化と EMT にかかわる細胞内遺伝子変化を誘導した。さらに BAFF は膵癌細胞の運動能および浸潤能を亢進させ、癌の進展、転移に関与していると考えられた。

[結論]

BAFF は転移のある膵癌症例において血清濃度が上昇し、膵癌細胞の EMT 関連遺伝子を変化させ、膵癌細胞の運動能および浸潤能を亢進させることを明らかにした。膵癌の進展にかかわる BAFF は、膵癌の治療標的となりうる可能性があると考えられた。

キーワード (3~5)

膵癌、BAFF、BARR-R、上皮間葉移行、転移