

学位論文審査結果の要旨

氏名	小泉 光仁
審査委員	主査 北澤 莊平 副査 田中 潤也 副査 井上 博文 副査 中岡 啓喜 副査 疋田 温彦

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
審査結果の要旨 (2,000 字以内)

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、小泉光仁氏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、また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これまで不明であった。そこで小泉光仁氏は、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、以下の 1-7 の検討を行った。

1. 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。
2. 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。
3. 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。
4. 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。

5. 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 healing/ 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成した。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 healing/ scratch test を行い、運動能の変化を検討した。

その結果、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 ($p=0.0121$)、とくに遠隔転移のある膵癌症例において血清 BAFF 濃度が上昇していることを確認した。さらに血清 BAFF 濃度と原発巣の腫瘍径の間には正の相関がみられ、膵癌症例と健常人の血清 APRIL 濃度に差がみられことを確認した。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、膵癌細胞では BAFF-R が陽性であり、TACI と BMCA は陰性であることを確認した。さらに、膵癌細胞株を用いた BAFF 作用の解析で、③膵癌細胞株すべてに BAFF-R が発現していたが、TACI と BMCA は発現していないこと。④PANC-1 に BAFF を添加したところ紡錘状の形態変化がみられ、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 の発現が増加していること。さらに、⑥BAFF 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、⑦PANC-1 に BAFF-R を高発現する膵癌細胞株クローンでは BAFF-R のシグナル伝達経路である NF-kappaB2 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ることを確認した。

以上の結果から、小泉光仁氏は、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、さらに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察した。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ことが示された。

本論文の公開審査会は、平成 24 年 11 月 16 日に開催された。小泉光仁氏による研究内容の発表の後、1) 血清 BAFF の持つ生物学的な意義についての考察、2) 実用性、3) 治療展開への展望、4) 原発組織の BAFF 発現状況、5) 病理診断との併用の有用性などについて審査委員より質問があり、小泉光仁氏はそれに対して明快に応答した。従って、審査委員会は全員一致して、本研究が学位に値すると判断した。