

学位請求論文の内容の要旨

論文提出者氏名	腫瘍制御科学領域 消化器外科学分野 氏名 内田 知顕
(論文題目) Diabetes in Humans Activates Pancreatic Stellate Cells via RAGE in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma (膵管癌において糖尿病は RAGE を介して膵星細胞を活性化する)	
(内容の要旨) <p>【背景】膵管癌 (PDAC) は、治療が最も困難な疾患の一つである。2 型糖尿病 (T2D) は、PDAC 発症の危険因子であることが知られているが、詳細なメカニズムはまだ完全には解明されていない。PDAC の病理組織学的特徴に間質線維化がある。膵臓に存在する膵星細胞 (PSC) は活性化すると線維化のみならず、膵管癌の増殖、進展にも関与することが明らかとなり新たな治療標的として注目されている。終末糖化産物受容体 (RAGE) は、炎症や増殖に関与するマルチリガンド受容体であり、終末糖化産物 (AGEs) の主要な受容体の 1 つである。多くの研究で、AGEs-RAGE 経路と糖尿病性血管合併症との直接的な関係が報告されている。PSC は RAGE を介しても活性化し、PDAC 細胞の増殖に寄与している。しかしながら、T2D や T2D をその一部として発症することの多いメタボリックシンドローム (MS) を合併した PDAC では、PSC における RAGE の役割は十分には解明されていない。本研究では、T2D と MS を合併した PDAC の PSC における RAGE の役割を評価した。</p> <p>【方法】高脂肪食 (HFD) 肥満誘発マウスにおいて、耐糖能異常と MS が PSC 活性化に及ぼす影響を評価した。次に PSC の活性化に対する AGEs の直接的な影響を評価するために、野生型マウス (WT)、RAGE-null マウス (RG) から単離した PSC を様々な用量の AGEs で刺激し活性化を評価した。この培養上清を用いてヒト PDAC 細胞株 (BxPC-3、AsPC-1) を培養し上皮間葉転換 (EMT) の程度を評価した。外科的に切除された PDAC 患者を、T2D 罹病期間 3 年以上の lnDM、同 3 年未満の sDM および非 T2D 合併の nDM に分けて臨床病理学的因子について検討した。MS が PSC の活性化に及ぼす影響を調べるため、lnDM において MS の因子に関する階層的クラスター分析を行った。各群における生存期間の解析を行った。</p> <p>【結果】8 週間 HFD を与えた野生型マウス (WTHFD) と RAGE-null マウス (RGHFD) では、普通食を与えた WT、RG と比較して、体重、空腹時および非空腹時の血糖値、トリグリセリド、総コレステロールおよび空腹時血漿インスリン濃度を有意に上昇させ、耐糖能異常を悪化させ、またインスリン耐性は減弱した。WTHFD では PSC の活性化マーカーである TGF-β、α SMA、コラーゲンタイプ 1A1 および RAGE の mRNA 発現が有意に増加した。一方、RGHFD ではこれらの遺伝子の発現の有意な増加は認められなかった。WT から単離した PSC では AGEs の用量依存的に TGF-β、α SMA、1A1 型コラーゲンおよび IL-6 の mRNA 発現が増加した。一方、RG から単離した PSC では、同様の AGEs による影響は認めなかった。また WT 由来の PSC を AGEs で刺激した培養上清中では、TGF-β と IL-6 の濃度が有意に増加した。この培養上清から得た調整培地を用いて、BxPC-3 と AsPC-1 を培養すると間葉系細胞に似た紡錘形に変化した。AGE で刺激していない PSC の調整培地を用いた細胞株と比較して、CDH-1 の mRNA 発現がほぼ半減し、vimentin の発現は 2.5 倍上昇しており EMT が誘導されていることが示唆された。RG 由来の PSC の培養上清から得た調整培地で培養すると、EMT の誘導は解</p>	

除された。

lnDM に対するクラスター解析の結果、2 つの異なるプロファイル(DMMS⁻、DMMS⁺)が存在した。臨床病理学的に DMMS⁺は DMMS⁻と比較して悪性度が高かった。PSC の活性化を示す指標として腭上皮内腫瘍性病変 (PanIN) 周囲の α SMA 発現の平均値を群間で比較すると、nDM と sDM では有意差は認めなかったが、lnDM、DMMS⁻、DMMS⁺では nDM と比較して有意に高値であった。さらに DMMS⁺は、DMMS⁻と比較して有意に高値であった。また間質細胞における RAGE の発現が PanIN 周囲の α SMA 発現の程度と有意に相関していた。EMT のマーカーとして、E-cadherin と Vimentin の発現を群間で比較すると nDM と比べて lnDM では有意に EMT が進行していたが、さらに DMMS⁺では DMMS⁻と比べて有意に EMT が進行していることが示唆された。

生存期間の解析では、単変量解析で T2D の有無、HbA1c 7%以上、DMMS⁺、E-cadherin 発現の低下、Vimentin 発現の上昇が無病生存期間 (DFS) と全生存期間 (OS) のリスク因子であった。多変量解析では、E-cadherin 発現の低下が DFS と OS の有意なリスク因子であった。Kaplan-Meier 生存曲線は、nDM と比較して lnDM の DFS と OS の短縮を明確に示していた。DMMS⁻では、DFS と OS は nDM に比べてわずかに短縮したが有意差はなく、DMMS⁺ではともに DMMS⁻より有意に短縮した。PDAC 細胞における E-cadherin 発現の低下も DFS と OS を短縮させた。

【考察】本研究では PDAC において、MS を伴った長期間の T2D 罹病と RAGE を介した PSC 活性化による予後悪化との密接な関連について解明した。PDAC の治療には癌そのものを治療する以外に、糖代謝を含めた MS の治療、すなわち生活習慣への介入も重要であると考えられた。PSC における RAGE は、新たな PDAC の発症、進展のプロモーターであり、将来的な治療のターゲットとなり得ると思われた。