

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 消化器外科学教育研究分野 氏名 潘 雪凱
(論文題目) Diabetes mellitus impacts on expression of DNA mismatch repair protein PMS2 and tumor microenvironment in pancreatic ductal adenocarcinoma (膵管腺癌 DNA ミスマッチ修復蛋白質 PMS2 発現と腫瘍微小環境に対する糖尿病の影響)	
(内容の要旨) 【緒言】 ミスマッチ修復 (MMR) 蛋白質は DNA 複製の間違いを識別し、膵導管癌 (pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC) を含む腫瘍発生に重要な役割を果たす。特にリンチ症候群の原因遺伝子として知られている。現在、MSH2, MSH6, MLH1, PMS1 homolog 2 (PMS2) が主に検索されており、単一で発現低下することは少ない。その中でも PMS2 は酸化ストレス下で分解され、発現が低下することが知られている。しかしながら、酸化ストレスがその発症に関与する 2 型糖尿病 (T2D) の PMS2 発現に対する影響は未だ不明である。また、腫瘍微小環境 (TME) における免疫細胞は MMR 欠陥 (dMMR) と関連していることが知られているが、PMS2 発現と関連しているかどうかは不明である。本研究では T2D による PDAC における MMR タンパク質の発現、TME における免疫細胞の変化、予後に対する影響を検討した。 【材料と方法】 61 例の外科手術により切除された PDAC 組織について臨床病理学的解析を行った。MMR 蛋白発現、酸化ストレス、免疫細胞浸潤に対して免疫染色による解析を行った。PDAC 細胞株である MIAPaCa-2, PANC-1, Bxpc-3, and AsPC-1 における MMR タンパク質発現の変化を 25mM グルコースおよび 500uM パルミチン酸 (PA) 刺激下で評価した。生存曲線は Kaplan-Meier 法と Log-rank test によって分析された。Cox スケールリスクモデルを用いて独立リスク要因を決定した。p<0.05 を統計学的有意差ありとした。 【結果】 脂質異常合併糖尿病は PDAC 組織中の PMS2 の発現を著しく低下させ、酸化ストレスの程度と負の相関を示した。PA は高血糖と併存することにより、ミトコンドリア非依存性の酸化ストレスを増強し、PMS2 タンパク質の分解を誘導した。外科手術標本における評価では、CD8 ⁺ T 細胞浸潤は短期の T2D (≤4 年) で有意に高値であった (p<0.05)。一方で、PMS2 の低発現に対して、CD163 ⁺ 腫瘍関連マクロファージ (TAM) 浸潤は糖尿病持続時間の延長 (>4 年) とともに有意に増加した (p<0.05)。非糖尿病 PDAC 患者と比較して、糖尿病の罹病期間が短い PDAC 患者は予後が良く (p<0.05)、糖尿病の罹病期間が長い PDAC 患者は有意に予後が悪かった (p<0.05)。 【考察】 本研究により、T2D は PDAC において PMS2 のタンパク質を発現低下させることが明らかにされた。インスリン分泌低下とインスリン抵抗性増大は T2D の 2 つの重要な病態であり、高血糖と同時に遊離脂肪酸の増加をもたらす。In vitro の実験により、高グルコースと高パルミチン酸によってミトコンドリア非依存性に PDAC 細胞から酸化ストレスが引き起こされることが明らかになった。このことから、T2D は脂質異常症と合併することにより酸化ストレスをより増大させ、PMS2 タンパク質の発現を可逆的に低下さ	

せていると考えられた。これらのことから、免疫チェックポイント阻害薬（ICIs）の PDAC に対する臨床応用のためには、あえて脂質異常症の治療強度をあげない選択枝も考えられる。T2D における PDAC 細胞 PMS2 発現低下を最大化するために、代謝異常の治療強度をどのようにすべきか将来的に決定する必要がある。

先行研究では、dMMR は CD8⁺T 細胞の高い浸潤、良好な予後と相関することが知られている。本研究では短期糖尿病（short-DM）患者の全生存率（OS）と無病生存期間（DFS）は非糖尿病（NDM）患者より優れていた。PDAC 組織中の CD8⁺T 細胞の浸潤は糖尿病そのものの影響を受けない一方で、short-DM 患者では NDM および長期糖尿病（long-DM）患者に比べて CD8⁺T 細胞浸潤が高かった。以上のことから PMS2 の発現が完全に欠損していなくても、short-DM では DNA ミスマッチ修復能力が弱まり、microsatellite Instability（MSI）が高く、予後が改善した可能性がある。ICIs は CD8⁺T 細胞浸潤を伴う MSI-High 癌に有効であるため、ICIs は罹病期間が短い T2D を伴った PDAC の治療選択枝になる可能性がある。

TME 構成に関与するマクロファージは、腫瘍の成長と転移をサポートするために炎症抑制性 M2 様 TAMs（CD163⁺）に分化し、予後を低下させる。本研究では、M2 様 TAMs は short-DM よりも long-DM により密接に関連していた。いくつかのタイプの癌モデルにおいて、TAMs は CD8⁺T 細胞の抗腫瘍作用を弱めることが証明されている。したがって、long-DM に誘導された M2 様 TAMs は PMS2 低発現に関連する CD8⁺T 細胞を抑制し、その結果、long-DM に合併した PDAC の予後を悪化させた可能性がある。

本研究の制約として、MSI 状態は MMR タンパク質の免疫組織化学的評価のみによったことがあげられる。遺伝子変異の有無も将来的に評価する必要がある。また、酸化ストレスによる PMS2 発現調整メカニズムを明らかにするために、PMS2 の発現調節機構のより詳細な検討を考慮する必要がある。さらに、CD163 は M2 様 TAMs の特異的なマーカーの 1 つであり、すべての M2 様 TAMs を完全にカバーすることはできないため、他のマーカーを用いたより詳細な検討が必要であると考えられた。

【結語】

T2D の病期、脂質異常症の合併は PMS2 発現と TME に影響を与え、PDAC の予後を変化させる。これは ICIs による治療効果も変化させるので、本研究結果は PDAC における ICIs の治療適応を決定するのに重要因子であると考えられた。