

Title	Epithelial-mesenchymal transition via TGF- β in pancreatic cancer is potentiated by the inflammatory glycoprotein LRG
Author(s)	大鶴, 徹
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/72529
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 大鶴 徹	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学教授 土岐 祐一郎
	副 査 大阪大学教授 竹原 徹也
	副 査 大阪大学教授 小川 和彦

論文審査の結果の要旨

膵癌は非常に診断時に遠隔転移を伴うことが多く、予後不良であるため、早期発見はもちろん、遠隔転移のメカニズム解析と制御法の確立が急がれている。申請者らは、癌の転移が上皮間葉転換(Epithelial-mesenchymal transition;以下、EMT)に関与することと、炎症が癌の発生や進展に関与することから、急性期炎症性蛋白質のLRG(Leucine-rich alpha-2- glycoprotein)がEMTメカニズムにはたす役割を検証した。まず膵癌細胞株において炎症性サイトカインがLRG産生を誘導することを示した。つぎに膵癌細胞株をもちいてLRG強制発現株を作成し、LRGはsmad2シグナルを介してTGF- β 1誘導性のEMTを促進すること、細胞浸潤能を亢進することを示した。さらに膵癌臨床検体をもちいて、血漿LRG値と術後遠隔転移との関係を示唆する結果を示した。これらのことから、急性期炎症性蛋白質LRGがTGF- β 1誘導性のEMTを促進して遠隔転移に関与する機序の一部が解明された。以上から学位に値するものとする。

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏名 Name	大鶴 徹 Toru Otsuru
論文題名 Title	Epithelial-mesenchymal transition via TGF- β in pancreatic cancer is potentiated by the inflammatory glycoprotein LRG (膵癌において、急性期炎症蛋白であるLRGはTGF- β 誘導性の上皮間葉転換を促進する)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>膵癌は診断時において遠隔転移を伴うことが多いため、治療成績が極めて不良であり、早期発見はもちろん、遠隔転移のメカニズム解析と制御法の確立が急がれている。申請者は、炎症が癌の発生ならびに進展に関与することに着目し、急性期炎症性糖タンパク質のLRG (Leucine-rich alpha-2- glycoprotein)が膵癌診断に有用であることを示してきた。これまでに報告されているLRGの機能は、正常内皮系細胞においてTGF-β1存在下にSmad1/5/8シグナルを介して血管新生を促進することと、マウス肺癌細胞においてSmad2シグナルを促進することである。これらのことから、我々の教室からは、癌の転移や化学療法抵抗性に関与すると近年報告されている上皮間葉転換(Epithelial-mesenchymal transition;以下、EMT)に着目した。EMTはTGF-β1存在下にSmadシグナルを介して誘導されることが知られている。本研究においては、膵癌におけるTGF-β1-Smadシグナルを介したEMTメカニズムにおけるLRGの役割を検証し、膵癌切除検体と血漿を用いて臨床的意義を明らかにすることを目的とした。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>膵癌細胞株を用いたLRGの発現の確認、EMTへの関与とメカニズム解析、臨床検体を用いた検討を行った。膵癌細胞株5種(AsPC1/BxPC3/MiaPaCa2/Panc1/Suit2)からのLRGの産生を、細胞培養上清を用いたEnzyme-linked immunosorbent assay (以下、ELISA)法で検討したところ、非刺激下の膵癌細胞株においては、LRGの産生は認められず、炎症性サイトカイン(IL-6、IL-22、IL-1β、TNF-α)のいずれかの刺激によって細胞培養上清へのLRGの分泌が誘導された。</p> <p>膵癌細胞株のうち、TGF受容体を発現し、E-cadherinの存在をWestern blotting(以下、WB)にて確認できたPanc1細胞を用いて、LRGの強制発現株とEmpty vector導入株を作成した。LRG強制発現株はPanc1親株・Empty vector導入株と比較して、TGF-β1刺激によってSpindle様形態を呈し、WBにおいてE-cadherinの減少、Vimentinの増加を認め、Invasion assayにおいて浸潤能が亢進しており、LRGがTGF-β1誘導性のEMTを促進する可能性が示唆された。</p> <p>EMT促進の理由を明らかにするために、LRGが作用するTGF-β1の下流のシグナルの検討を行った。LRG強制発現株では、Panc1親株・Empty vector導入株と比較して、WBでsmad2のリン酸化の増強が認められ、定量的RT-PCRでsmad2の転写標的遺伝子であるPAI-1(Plasminogen activator inhibitor-1)の発現増加が認められた。LRG強制発現株において、smad2シグナルに関わるTGF-β1 type1受容体の発現上昇をWBで確認した。LRGによって、TGF-β1 type1受容体は増加するとともに、smad2シグナルを介して、EMTが誘導されることが示唆された。</p> <p>上記所見をヒト検体において検証する目的で、膵癌切除39例における臨床病理学的検討を行った。血漿LRG値をELISAで測定し、膵切除検体においてLRGが染色されることを免疫組織化学染色にて確認した。手術前の血漿LRG値を中央値で二分すると、臨床病理学的背景に違いを認めず、血漿LRG値高値群は、低値群と比較して、術後の再発、特に遠隔転移再発が高率である傾向を示し、無再発生存期間は短縮する傾向を示した(p=0.0523)。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p>膵癌では炎症性サイトカイン刺激によってLRGが産生され、このLRGが、TGF-β1刺激に伴うSmad2シグナルを増強することでTGF-β1誘導性のEMTを促進し、さらにLRGによって促進されたEMTが、膵癌の遠隔転移再発機序に関与する可能性を示した。</p>	