



Title	Skeletal Muscle-Derived Irisin Enhances Gemcitabine Sensitivity and Suppresses Migration Ability in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma
Author(s)	杉本, 智樹
Citation	大阪大学, 2024, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/98741
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	杉本 智樹
論文題名 Title	Skeletal Muscle-Derived Irisin Enhances Gemcitabine Sensitivity and Suppresses Migration Ability in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma (骨格筋由来のirisinは、膵癌のゲムシタビン感受性を増強し遊走能を低下させる)
論文内容の要旨	
〔目 的(Purpose)〕	
<p>浸潤性膵管癌(以下、膵癌)は骨格筋量の多い患者において予後が良好であることが報告されている。骨格筋が膵癌細胞へ及ぼす抗腫瘍効果を明らかにすることは、新たな治療法の開発に繋がると考え、筋由来のcytokineであるirisinに着眼した。irisinは前駆体であるFibronectin type III domain-containing protein 5(以下、FNDC5)の細胞外ドメインが血中に放出され作用する蛋白であり、肺癌や前立腺癌における抗腫瘍効果が報告されている。本研究では骨格筋由来のirisinが膵癌細胞に与える影響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>まず骨格筋細胞の培養上清が膵癌細胞に与える影響を検討した。骨格筋細胞を、以下の細胞数(control、25,000、50,000、100,000細胞)で24時間培養し、上清を回収した。以下の研究では、2種の膵癌細胞株(MIA PaCa-2、PANC-1)を用いた(同様な結果が得られたため、MIA PaCa-2のみ数値を記載した)。各実験はn=3以上で行い、$P<0.01$を有意差ありとした。骨格筋細胞の培養上清の添加による、Gemcitabine(以下、GEM)に対する感受性の変化をMTT assayで、遊走能の変化をScratch assayで検討した。GEMのIC_{50}はcontrol 4.0ng/mlに対し、それぞれ3.0ng/ml、2.5ng/ml、1.3 ng/mlに低下し、遊走能はそれぞれ62.0%、44.9%、15.8%に低下した。次に、骨格筋細胞の培養上清の添加による、膵癌細胞の上皮間葉転換の変化をqRT-PCRで検討した。<i>KRT19</i>はcontrolと比較して127.2%に上昇、<i>VIM</i>は84.8%、<i>SNAIL</i>は40.4%に低下し、骨格筋細胞の培養上清の添加によって、膵癌細胞株の上皮間葉転換は阻害されたことが分かった。</p>	
<p>骨格筋細胞の培養上清におけるirisin濃度をELISA法で検討した。培養上清のirisin濃度は細胞数依存的に上昇すること(25,000細胞と比較し50,000細胞で1.2倍、100,000細胞で1.4倍上昇)、またRNA干渉で骨格筋細胞におけるFNDC5の発現抑制を行うと、培養上清のirisin濃度はcontrolと比較し30.8%に低下することを確認した。骨格筋細胞におけるFNDC5の発現抑制を行った場合のGEM感受性、遊走能の変化について検討したところ、GEMのIC_{50}はcontrolと比較して上昇し(control : 1.4 ng/ml、発現抑制 : 4.1 ng/ml)、遊走能は210.6%に上昇した。続いて、recombinant irisin蛋白の添加実験を行った。recombinant irisinを濃度毎(control、10、20nM)に添加することで、GEMのIC_{50}はcontrolと比較して低下し(control : 4.2ng/ml、10nM : 2.1ng/ml、20nM : 1.8 ng/ml)、遊走能はそれぞれ55.4%、22.8%に低下した。</p>	
<p>irisinによる抗腫瘍効果の機序として、MAPK経路、TGF β -SMAD経路を介した上皮間葉転換について、Western Blot法で評価した。その結果、MAPK経路におけるpJNK、pERK、およびpp38が、またTGF β -SMAD経路におけるpSMAD2、およびpSMAD3がrecombinant irisinの投与により減弱することを示した。</p>	
<p>BALB/cAJcl-nu/nuマウスに膵癌細胞を皮下移植し、recombinant irisinの効果を検討した。GEM単独群(GEM : 週1回125mg/kg腹腔内投与)とrecombinant irisin併用群(GEM : 週1回125mg/kg腹腔内投与、recombinant irisin : 連日500 μ g/kg腹腔内投与)の2群に分け、28日後に腫瘍を摘出し、それぞれの腫瘍体積を比較した。その結果、recombinant irisin併用群の腫瘍体積は、GEM単独群と比較し、69.8%に縮小した。最後に、術前化学療法後に根治切除を行った膵癌患者36例において血清irisin濃度と腸腰筋体積との関係、及び長期成績を検討した。血清irisin濃度はELISA法で測定し、腸腰筋体積は術前化学療法前のCT画像を用いて計測した。血清irisin濃度と腸腰筋体積には、正の相関が認められた($R^2=0.423$)。次に、男女別四分位範囲点を閾値とし、血清高irisin群(n=28)、血清低irisin群(n=8)の2群で長期成績を比較した。術後3年生存率は高irisin群では低irisin群に比して良好で(高irisin群 : 69.4%、低irisin群 : 25.0%)、3年遠隔転移再発率が低値であった(高irisin群 : 11.1%、低irisin群 : 62.5%)。</p>	
〔総 括(Conclusion)〕	
<p>骨格筋細胞の培養上清が膵癌細胞のGEM感受性を増強し、遊走能を低下させること、その変化にirisinが影響を及ぼすことを示した。骨格筋由来のirisinは膵癌切除後患者の長期成績の改善に寄与する可能性がある。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 杉本 智樹			
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	大阪大学教授	江口 英利
	副 査	大阪大学教授	山本 浩文
	副 査	大阪大学教授	中田 研
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>本論文では、肺癌患者の予後における骨格筋量との関連性を明らかにし、そのメカニズム解明を通じて新たな治療法の開発に貢献することを目的とした。そのために、骨格筋から分泌されるcytokineであるirisinが肺癌細胞に及ぼす影響を評価した。まず骨格筋細胞の培養上清が肺癌細胞のGemcitabine（以下、GEM）への感受性や遊走能に及ぼす影響を評価し、次にirisinの濃度と肺癌細胞への影響、そしてirisinの抗腫瘍効果の機序を評価した。その結果、irisinは肺癌細胞の上皮間葉転換を抑制し、MAPK経路やTGFβ-SMAD経路を介してその作用を示すことが明らかになった。さらに、マウス実験では、recombinant irisinがGEMと併用することで腫瘍の縮小に寄与することが確認された。また、肺癌患者における血清irisin濃度と長期成績の関連性を検討し、高irisin群の患者において良好な生存率と低い遠隔転移再発率を示した。これらの知見は、肺癌治療や予後予測における新たなアプローチを提供したことから、学位の授与に値すると思われる。</p>			