

京都大学	博士 (医 学)	氏 名	生 田 耕 三
論文題目	Nardilysin inhibits pancreatitis and suppresses pancreatic ductal adenocarcinoma initiation in mice(ナルディライジンは、マウスにおいて、膵炎の発症を抑制し、膵管癌の発生を阻害する)		
(論文内容の要旨)			
<p>M16 メタロプロテアーゼの一つである Nardilysin(N-arginine dibasic convertase: Nrdc)は広範な膜タンパク質の細胞外ドメインシェディング増強因子であるとともに、核移行し転写調節因子として機能することが知られているが、膵腺房細胞における Nrdc の役割はこれまで不明であった。本研究では、膵外分泌組織の恒常性維持及び膵発癌における Nrdc の機能的役割について明らかにすることを目的とした。その目的のため、初めに膵特異的に Nrdc を欠失させたマウス (<i>Ptf1a-Cre; Nrdc (flox/flox)</i>マウス・以下 <i>Nrdc-ckO</i> マウス) を作成し、野生型(以下 WT)マウスをコントロールとして比較解析した。</p> <p>WT マウスでは、Nrdc は膵腺房細胞の核に発現していた。生後3週では <i>Nrdc-ckO</i> マウスの膵はWT マウスと比べて明らかな違いを認めなかったが、生後8週では <i>Nrdc-ckO</i>膵は著明な萎縮が認められた。マウス生後3週、5週、8週での膵を解析した結果、<i>Nrdc-ckO</i>膵では、5週から腺房導管異形成(Acinar to ductal metaplasia:ADM)が認められた。</p> <p>さらに <i>Nrdc-ckO</i> 膵を解析した結果、マクロファージを含む白血球が浸潤し、線維化の進行が認められ、炎症性サイトカイン、ケモカインの発現が上昇していたことから、慢性膵炎が自然発生していることが判明した。さらに、<i>Nrdc</i> 欠失の影響を調べるため、<i>Nrdc (flox/flox)</i>マウスの膵腺房細胞を分離し、<i>Cre</i> 発現アデノウイルスに感染させたところ、<i>Cxcl10</i>に代表されるケモカインの発現が上昇しており、膵腺房細胞の Nrdc がケモカインの発現を抑制していることが示された。<i>Nrdc-ckO</i>膵のさらなる詳細な検討のため、膵組織でのマイクロアレイ解析を行った結果、走化性(chemotaxis)、NF-<math>\kappa</math>B 経路、ERK 経路にかかわる遺伝子発現が有意に上昇していることが判明した。</p> <p>また、マウス生後5週 <i>Nrdc-ckO</i>膵では、アポトーシス細胞の著明な増加がみとめられると同時に、細胞増殖マーカー陽性細胞の有意な増加も認められたことから、アポトーシスの著明な亢進により、代償的に細胞増殖も亢進していることが示唆された。</p> <p>さらに、膵腫瘍形成における Nrdc の役割を検討する目的で、Kras を活性化させる <i>KrasG12D</i> 変異アレルを用いて、<i>Ptf1a-Cre ; KrasG12D ; Nrdc (flox/flox)</i> マウスを作成し、解析した。その結果、Kras 活性化において、<i>Nrdc-ckO</i> マウスではコントロールマウス (<i>Ptf1a-Cre ; KrasG12D ; Nrdc (flox/+)</i>マウス) に比して、膵管癌(pancreatic ductal adenocarcinoma:PDA)の前癌病変である膵上皮内腫瘍性病変(pancreatic intraepithelial neoplasia:PanIN)の形成が有意に促進され、マクロファージの浸潤が亢進し、線維化領域が著明に増加していた。</p> <p>最後に、術後ヒト標本検体を用いて NRDC の発現を検討した結果、NRDC はすべての膵腺房細胞の核に発現しており、一部の ADM、PanIN、PDA では発現が欠失していた。このことから、NRDC は、ヒトにおいても、一部で膵炎、膵発癌を抑制している可能性が示唆された。</p> <p>以上より、本研究により、マウスにおいて、Nrdc は膵炎の発症を抑制し、膵管癌の発生を阻害することが明らかになった。</p>			

(論文審査の結果の要旨)
<p>メタロプロテアーゼの一つである Nardilysin (NRDC)は、細胞膜上でタンパク切断増強を行うとともに、核内で転写制御を行う。申請者らは、膵外分泌組織の維持、膵発癌における Nrdc の機能的役割を検討した。</p> <p>申請者らは、野生型マウスの膵において、膵腺房細胞の核に Nrdc が発現していることを示した。次に、膵上皮細胞特異的に <i>Nrdc</i> をノックアウトした遺伝子改変マウスを作成・解析し、<i>Nrdc</i> 欠失マウスの膵において、慢性膵炎が自然発生し、acinar to ductal metaplasia (ADM)、炎症性細胞の浸潤、アポトーシスの亢進がみとめられることを明らかにした。<i>Nrdc</i> 欠失マウスに発生する慢性膵炎の発症には、CxCl 10 などのケモカインの発現上昇が寄与している可能性が示された。さらに、活性化 <i>Kras</i> の存在下では、<i>Nrdc</i> 欠失マウスにおいて、膵癌の前癌病変である膵上皮内腫瘍性病変(pancreatic intraepithelial neoplasia (PanIN))の形成が著明に促進され、膵癌の形成が加速された。最後に、術後ヒト標本検体を用いた検討により、一部のヒト ADM、PanIN、膵癌では NRDC の発現が消失していた。以上より、Nrdc は慢性膵炎の発症を抑制し、膵癌の発生において抑制的に働くことが明らかになった。</p> <p>以上の研究は、慢性膵炎および慢性膵炎を背景とした膵発癌の機序解明に貢献し、慢性膵炎、膵癌の新しい予防・治療法開発に寄与する可能性が考えられる。</p> <p>したがって、本論文は博士 ( 医 学 ) の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 31 年 2 月 22 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>
要旨公開可能日： 年 月 日 以降