

京都大学	博士（医学）	氏名	森田 敏広
論文題目	CXCR4 in tumor epithelial cells mediates desmoplastic reaction in pancreatic ductal adenocarcinoma (腫瘍細胞における CXCR4 は浸潤性膵管癌における desmoplastic reaction を仲介する)		
(論文内容の要旨)			
<p>浸潤性膵管癌 (Pancreatic Ductal Adenocarcinoma ; PDAC) は膵癌の 90% を占める代表的な組織型で、その特徴として Desmoplastic Reaction と呼ばれる癌細胞周囲の豊富な筋線維芽細胞および細胞外マトリックス (extracellular matrix ; ECM) を認める。</p> <p>Desmoplastic Reaction は膵癌の形成・増殖に大きく寄与することが報告されており、その形成に関わる分子として、腫瘍細胞の CXCR4 とその Ligand で、筋線維芽細胞から分泌される CXCL12 の重要性が報告されているが詳細は明らかでない。本研究では膵癌形成および Desmoplastic Reaction 形成における CXCR4/CXCL12 の役割を解明することを目的とした。</p> <p>まず、CXCR4 の膵前癌病変と膵癌形成における役割を解析するためにマウスモデルによる検証を行った。Cxcr4 flox マウスと PDAC モデルマウスとして知られる膵臓特異的に変異 Kras 蛋白および Trp53 蛋白を発現する Pdx1-Cre;Kras<sup>LSL-G12D/+</sup>;Trp53<sup>LSL-R172H/+</sup> (KPC-Cxcr4-WT) マウスを交配し、Cxcr4 を膵特異的にノックアウトした膵癌モデル (KPC-Cxcr4-KO) マウスを作成し観察を行った。その結果、KPC-Cxcr4-KO マウスは前癌病変の形成が有意に少なく、病理学的悪性度も低かった。一方、膵癌の発生頻度には差を認めなかったが、KPC-Cxcr4-KO マウスの膵癌は肉眼的に有意に大きく、紡錘形の腫瘍細胞が密に増生し腫瘍周囲の筋線維芽細胞や ECM 減少するなど、Desmoplastic Reaction が抑制され、ヒト膵未分化癌に類似する組織形態を示した。免疫染色でも上皮細胞マーカーである Cytokeratin が弱陽性、間質細胞マーカーである Vimentin が陽性であり未分化癌に相当するものであった。</p> <p>次に、上記マウス腫瘍細胞の初代培養を用い、増殖能・遊走能を評価した。その結果、KPC-Cxcr4-KO マウス腫瘍細胞は高い増殖活性と遊走活性を示した。また定量 PCR では Epcam 遺伝子の発現低下と Vimentin 遺伝子の発現増加を認め、上皮間葉転換 (Epithelial-Mesenchymal Transition ; EMT) の誘導により未分化癌に変化したことが推察された。</p> <p>これらのメカニズムを解析するため、筋線維芽細胞と腫瘍細胞の相互作用について初代培養を用いて解析した。その結果、KPC-Cxcr4-WT マウス腫瘍細胞では筋線維芽細胞が発現する Cxcl12 と、腫瘍細胞が発現する Cxcr4 の相互作用によって腫瘍細胞の浸潤能が誘導され、KPC-Cxcr4-KO マウス腫瘍では誘導が起こらないことが明らかになった。これらの結果より、腫瘍細胞と筋線維芽細胞における CXCR4/CXCL12 が Desmoplastic Reaction 形成にかかわる可能性が示された。</p> <p>最後にヒト膵癌の検討を行った。その結果ヒト PDAC では CXCR4 の発現を認めるが、膵未分化癌では CXCR4 を発現せず、KPC-Cxcr4-KO マウスと同様の組織学および免疫組織化学的特徴を示した。</p> <p>以上の結果により、CXCR4/CXCL12 シグナルは膵癌組織における Desmoplastic Reaction 形成に重要な役割を果たしており、CXCR4 の機能欠損により未分化癌の表現系が誘導される可能性が示唆された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

浸潤性膵管癌 (Pancreatic Ductal Adenocarcinoma ; PDAC) は癌細胞周囲の Desmoplastic Reaction (DR) と呼ばれる癌細胞周囲の豊富な筋線維芽細胞および細胞外マトリックスを特徴とする。CXCR4 は腫瘍細胞に広く発現する Cytokine receptor で、Ligand である CXCL12 は筋線維芽細胞から分泌され、膵癌の形成・増殖に大きく寄与することが報告されているが詳細は明らかでない。本研究では CXCR4/CXCL12 の膵癌および DR 形成における役割を解明することを目的とした。

まず、膵発癌における Cxcr4 の役割を検討するため膵癌モデルマウスによる検証を行った。その結果、Cxcr4 欠損マウスでは膵前癌病変が減少した (23.5% vs 11.3%,  $P=0.02$ ) 一方で、膵癌の発生頻度には変化がなかった (26.3% vs 22.7%,  $P=0.79$ )。しかし、腫瘍径が有意に大きくなり腫瘍細胞が紡錘形に変化し細胞密度が増加した。また、腫瘍周囲の DR が抑制されるなどヒト膵未分化癌に類似する組織形態を示した。

In vitro における実験では Cxcr4 欠損マウス腫瘍は増殖能・遊走能が上昇する一方、転移能は抑制された。腫瘍細胞の詳細な解析により Cxcr4 欠損マウス腫瘍は上皮間葉転換 (Epithelial-Mesenchymal Transition) が誘導されていることが示された。

ヒト膵癌検体を用いた検証では PDAC は CXCR4 発現を認めた一方、膵未分化癌では CXCR4 の発現を認めず (72.2% vs 0%,  $P<0.01$ )、Cxcr4 欠損マウス腫瘍と同様の特徴・形質を示した。

これらの結果から CXCR4/CXCL12 が膵癌および DR 形成に重要な役割を果たし、CXCR4 の機能欠損が膵未分化癌への分化誘導にかかわる可能性が示唆された。

以上の研究は CXCR4 と膵癌および DR 形成の解明に貢献し、膵癌の病態解明に寄与するところが多い。

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。

なお、本学位授与申請者は、令和 2 年 11 月 9 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。

要旨公開可能日： 年 月 日以降