

氏 名	なか じま さ なえ 中 嶋 早 苗
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	論 医 博 第 1937 号
学位授与の日付	平 成 19 年 9 月 25 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	N-cadherin Expression and Epithelial-Mesenchymal Transition in Pancreatic Carcinoma (膵癌におけるN-cadherinの発現と上皮間葉系化生の関連について)

論文調査委員	(主 査) 教 授 千 葉 勉 教 授 武 藤 誠 教 授 野 田 亮
--------	--

論 文 内 容 の 要 旨

上皮間葉系化生 (epithelial-mesenchymal transition, 以下 EMT) とは上皮細胞が細胞増殖因子の刺激による線維芽細胞様の形態変化を起こし、同時に運動性や浸潤性を獲得する現象をさす。EMT の過程では様々な遺伝子やタンパク質の発現レベルが変化しているが、cadherinに代表される接着分子が特に重要であり、E-cadherinが消失しN-cadherinが発現するcadherin switchなる現象が知られている。N-cadherin は、非上皮性神経由来の接着因子で、近年、乳癌や前立腺癌などの細胞レベルで浸潤転移に関与していると報告されている。

本研究では、膵癌におけるN-cadherinの発現を検討し、EMTに関与する可能性のあるE-cadherinの発現、及びEMTの指標となると考えられるvimentinの発現との関連につき検討した。また細胞増殖因子のEMTとの関連につき検討した。

京都大学腫瘍外科において、1997年1月から2000年6月までに切除された30例の膵臓癌の原発巣及び肝転移巣15例を用いた。ホルマリン固定パラフィン包埋標本で、抗N-cadherin, 抗E-cadherin, 抗vimentin, 抗TGF β , 抗FGF2抗体を用いた免疫組織化学染色 (CSA 法, 又はABC 法) を施行した。

さらに5種類の膵癌細胞株 (AsPC-1, BxPC-3, Capan-2, MiaPaca-2, Panc-1) を用いて、E-cadherin蛋白とN-cadherin蛋白の発現を検討した。またTGF β , FGFを24時間あるいは48時間接触させた後のE- 及びN-cadherin, Vimentin蛋白の発現変化をWestern blot法及び蛍光免疫染色法で検討した。

手術切除標本の免疫組織染色において、原発病巣の30例中13例、肝転移巣の15例中8例でN-cadherinの発現を認めた。N-cadherinの発現と他の因子の発現の関連については、FGF2の発現は原発巣では有意な相関 ($p=0.015$) を認め、肝転移巣でも相関する傾向を認めた。TGF β の発現は肝転移巣で有意な相関 ($p=0.049$) を認めた。E-cadherinの減弱との間には相関は認められなかった。

手術切除標本の免疫組織染色において、各因子の発現と臨床病理学的因子について検討した。N-cadherinの発現は分化度 ($p=0.049$)、膵内神経浸潤 ($p=0.028$)、pM (0.067) と有意な相関を認め、膵外神経叢浸潤とは相関する傾向を認めた。E-cadherinの減弱とFGF2の発現は相関する傾向を認めたが、TGF β の発現との関連は認めなかった。VimentinとN-cadherinの発現は肝転移巣において有意な相関 ($p=0.01$) を認めた。

膵癌細胞におけるWestern blot法による検討では、E-cadherinの発現はMiaPaca2を除く4株に認められ、N-cadherinの発現はBxPC-3, Capan-2, Panc-1において認められた。さらに、Panc-1ではTGF β 接触によりE-cadherinの減弱と、N-cadherin, Vimentinの発現増強を認めた。また、BxPC-3では、FGF2接触によりN-cadherinの発現増強を認め、蛍光免疫染色で、FGF2接触によるBxPC-3の細胞形態の変化を認めた。

以上の結果から膵癌においては、細胞増殖因子を介した細胞接着因子の発現変化によりEMTが誘導され、その過程が癌の浸潤転移に関与している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

上皮細胞の癌化及びその伸展は、上皮間葉系化生（EMT）に基づくと考えられ、その過程において特に cadherin 等の接着分子が重要であるといわれている。非上皮性神経由来の接着因子である N-cadherin は、近年、乳癌や前立腺癌などで浸潤転移に関与するとの報告があるが、膵癌に関する報告はない。申請者は膵癌における N-cadherin の発現を検討し、EMT に関与する可能性のある E-cadherin, vimentin 及び細胞増殖因子の発現の関連につき検討した。

ヒト膵癌組織において、原発病巣30例の43%、肝転移巣の15例53%で N-cadherin の発現を認めた。他因子との発現の関連は、FGF2 は原発巣で有意な相関（ $p=0.015$ ）、TGF β は肝転移巣で有意な相関（ $p=0.049$ ）を認めた。E-cadherin の減弱との間には相関は認めなかった。

各因子と臨床病理学的因子の関連は、N-cadherin の発現は分化度（ $p=0.049$ ）、膵内神経浸潤（ $p=0.028$ ）、pM（0.067）と有意な相関を認めた。他因子に関しては有意な相関を認めなかった。Vimentin と N-cadherin の発現は肝転移巣において有意な相関（ $p=0.01$ ）を認めた。

膵癌細胞において N-cadherin 蛋白の発現を BxPC-3, Capan-2, Panc-1 に認めた。更に Panc-1 で TGF β 接触により E-cadherin の減弱と、N-cadherin, Vimentin の発現増強を認めた。また、BxPC-3 で FGF2 接触により N-cadherin の発現増強を認め、蛍光免疫染色で FGF2 接触による BxPC-3 の細胞形態の変化を認めた。

以上の研究結果から、膵癌における N-cadherin の発現修飾が EMT に関与している可能性が示唆された。これらの結果は膵癌の浸潤転移の機序を明らかにする上で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、平成19年9月3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。