

氏名	三浦 光太郎
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	第6308号
授与報告番号	甲第3577号
学位授与年月日	平成28年3月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当者
学位論文名	Establishment and Characterization of New Cell Lines of Anaplastic Pancreatic Cancer, which is a Rare Malignancy: OCUP-A1 and OCUP-A2
論文審査委員	主査教授 大平 雅一 副査教授 鰐淵 英機 副査教授 藤原 靖弘

論文内容の要旨

【目的】膵退形成癌は通常型膵癌の一亜型で、通常型膵癌よりも予後不良である。発生頻度は極めて低く、その分子生物学的特徴の多くは不明である。今回われわれは、2例の膵退形成癌症例より、膵退形成癌細胞株を樹立し、その生物学的特徴について検討した。

【対象と方法】新規に樹立した膵退形成癌細胞株2種(OCUP-A1, OCUP-A2)と通常型膵癌細胞株(Panc-1, MIAPaCa2, SW1990, RWP1)を用いて検討した。In vitro においては、遺伝子変異・染色体分析・Doubling time・遊走能・浸潤能・腫瘍マーカーおよびVEGF値測定・血管新生能・抗癌剤感受性・低酸素耐性・上皮間葉移行関連分子(E-cadherin と vimentin)の発現およびSide Population(SP)細胞の割合について検討した。In vivo においては、マウス皮下腫瘍の増殖速度を検討した。また、細胞株を得た症例の原発巣とマウス皮下腫瘍を用い、E-cadherin と vimentin の免疫染色を行った。

【結果】OCUP-A1、OCUP-A2ともにKRASとTP53を含む9遺伝子で変異を認めた。染色体分析では両細胞株ともに数的・構造的異常を認めた。Doubling timeはOCUP-A1で20.6時間、OCUP-A2で20.4時間であった。遊走能・浸潤能は通常型細胞株と比較しても有意差は認めなかった。抗癌剤感受性試験ではOCUP-A1、OCUP-A2ともにGemcitabineに対する感受性が高かった。血管新生能はOCUP-A1が他の細胞株よりも高く、OCUP-A1は低酸素耐性も有していた。Western blotting法で膵退形成癌においてE-cadherinの発現消失とvimentinの発現を認めた。SP細胞分析では、OCUP-A1、OCUP-A2は一部の通常型膵癌細胞株よりSP細胞分画が有意に多かった。マウス皮下腫瘍は全てのマウスで作成に成功し、その増大速度はOCUP-A2は有意に他の通常型膵癌細胞株よりも速かった。免疫染色については、Western blotting同様、OCUP-A1、OCUP-A2の原発巣・皮下腫瘍ともにE-cadherinの発現消失とvimentinの発現を認めた。

【結論】希少な癌である膵退形成癌細胞株を2種樹立した。高悪性度の膵癌細胞株として、今後の膵癌研究で有用である可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

膵退形成癌は通常型膵癌の一亜型で、通常型膵癌よりも予後不良である。発生頻度は極めて低く、その分子生物学的特徴の多くは不明である。本研究は膵退形成癌症例より膵退形成癌細胞株を樹立し、その生物学的特徴を明らかにすることを目的としている。

方法は、2例の膵退形成癌症例より膵退形成癌細胞株(OCUP-A1、OCUP-A2)を樹立、その特性を分析し通常型膵癌細胞株(Panc-1, MIAPaCa2, SW1990, RWP1)と比較検討した。In vitroにおいては、遺伝子変異・染色体分析・Doubling time・遊走能・浸潤能・腫瘍マーカーおよびVEGF値測定・血管新生能・抗癌剤感受性・低酸素耐性・上皮間葉移行関連分子(E-cadherinとvimentin)の発現およびSide Population(SP)細胞の割合について検討した。In vivoにおいては、マウス皮下腫瘍の増殖速度を検討した。また、細胞株を得た症例の原発巣とマウス皮下腫瘍を用い、E-cadherinとvimentinの免疫染色を行った。

その結果、OCUP-A1、OCUP-A2ともにKRASとTP53を含む9遺伝子で変異を認めた。染色体分析では両細胞株ともに数的・構造的異常を認めた。Doubling timeはOCUP-A1で20.6時間、OCUP-A2で20.4時間であった。遊走能・浸潤能は通常型細胞株と同等であった。抗癌剤感受性試験ではOCUP-A1、OCUP-A2ともにGemcitabineに対する感受性が高かった。OCUP-A1は高い血管新生能と低酸素耐性を有していた。Western blotting法で膵退形成癌においてE-cadherinの発現消失とvimentinの発現を認めた。SP細胞分析では、OCUP-A1、OCUP-A2は一部の通常型膵癌細胞株よりSP細胞分画が有意に多かった。マウス皮下腫瘍は全てのマウスで作成に成功し、OCUP-A2の増大速度は有意に他の通常型膵癌細胞株よりも速かった。免疫染色ではWestern blotting同様、OCUP-A1、OCUP-A2の原発巣・皮下腫瘍ともにE-cadherinの発現消失とvimentinの発現を認めた。

以上より、樹立した膵退形成癌細胞株は高悪性度の膵癌細胞株として、通常型膵癌細胞株とは異なる特性を有しており、今後の膵癌研究で有用である可能性が示唆された。

本論文は、希少な癌腫である膵退形成癌の分子生物学的特徴や通常型膵癌からの進展機序の解明に有用なモデルとなり、膵癌克服に寄与するものと考えられた。よって、本研究は博士(医学)の学位を授与されるに値するものと判定された。