

学 位 論 文 要 旨

氏 名

安達 快



論 文 題 目

「CD109 expression in tumor cells and stroma correlates with
progression and prognosis in pancreatic cancer」

(腫瘍細胞および間質における CD109 の発現は、
膵臓癌の進行および予後と関連する)

指 導 教 授 承 認 印

村 雲 芳 樹



「CD109 expression in tumor cells and stroma correlates with progression and prognosis in pancreatic cancer」

(腫瘍細胞および間質における CD109 の発現は、膵臓癌の進行および予後と関連する)

氏名 安達 快

【背景/目的】

膵管癌 (PDAC) は、高い致死率を伴う予後不良な悪性腫瘍である。病理学的には、PDAC は高い浸潤性を有し、豊富な線維性間質を伴って周囲の組織に急速に浸潤し、遠隔臓器に転移する。手術例を含めた 5 年生存率は 10% 程度で、80% 以上の患者が手術不能な状態で診断される。PDAC の予後を改善するためには、疾患の早期発見による手術可能症例の増加と、手術不能症例や再発症例に対する有効な抗がん剤治療の開発が重要である。しかし、PDAC の早期発見や予後予測に有用な分子マーカーは現在のところ存在せず、膵臓がんの治療に使用できる有効な分子標的薬もほとんどないのが現状である。したがって、膵臓がんの新しい診断マーカー・予後予測マーカーや分子標的治療薬の開発が望まれる。

CD109 はグリコシルホスファチジルイノシトールアンカー型の細胞表面に存在する糖タンパクであり、TGF- β 1 シグナルを抑制することや、EGF シグナルを促進的に制御することが報告されている。これまでに様々な癌腫で腫瘍細胞における CD109 の高発現が、予後不良と関係することが報告されているが、膵癌に関連する報告はわずかである。加えて、ヒトの悪性腫瘍の間質における CD109 発現の重要性はこれまでに解析されていない。

本研究では、膵癌の臨床検体を用いた免疫組織化学染色と膵癌細胞株を用いた *in vitro* の機能解析を駆使し、豊富な線維性間質を有する悪性腫瘍である PDAC における、腫瘍と間質での CD109 発現の意義とその作用メカニズムを明らかにすることを目的とする。

【方法】

92 症例の PDAC の手術標本を使用した免疫組織化学染色と RNAscope®による *In situ* hybridization を駆使して、PDAC における CD109 発現と臨床病理学的因子及び予後との関係を調査した。

CD109 発現の生物学的意義については、膵癌細胞株を使用した細胞培養実験により解析を行った。CD109 高発現の膵癌細胞株である PANC-1 および MIA PaCa-2 を用いて、CRISPR/Cas9 システムにより *CD109* ノックアウト細胞株を樹立し、*CD109* ノックアウト細胞株と野生型の細胞株を用いて、細胞増殖と移動能及びシグナル伝達系の解析を行った。

【結果】

92 例の PDAC 手術標本を免疫組織化学的に解析した結果、腫瘍細胞における CD109 の発現は、予後不良（無病生存期間 $p=0.003$ 、全生存期間 $p=0.002$ ）と有意に相関し、PDAC における独立した予後予測因子（無病生存期間 $p=0.0173$ 、全生存期間 $p=0.0104$ ）であることが明らかになった。

また、腫瘍細胞周囲の間質においても CD109 の染色性が確認され、この間質における CD109 の染色性は癌関連線維芽細胞の組織学的マーカーである α -smooth muscle actin (SMA) の染色性と非常に類似していることが明らかになった。このことは CD109 と α -SMA の蛍光二重染色によって確認された。CD109 が PDAC の腫瘍細胞を取り巻く間質に発現していることは、mRNA レベルの *in situ* hybridization によっても確認された。これらの結果から、腫瘍周囲の間質での CD109 の発現は、CAF の存在を示している可能性が示唆された。間質での CD109 の発現は、PDAC の腫瘍の進行度 (TNM stage $p=0.033$ 、N 因子 $p=0.024$ 、リンパ管侵襲 $p=0.028$) と有意に相関していた。さらに、腫瘍細胞と間質の CD109 を組み合わせて評価することで、患者全体の中から予後の良い患者群を特定することができた。

膵癌細胞株である MIA PaCa-2 では、CD109 が腫瘍細胞の運動性に関与していることが示されたが、PANC-1 では同様の結果は得られなかった。すべての *CD109* ノックアウト細胞株は、野生型細胞株と比較して、増殖能に明らかな変化を示さず、CD109 は PDAC 細胞株の EGF、TGF- β 1、STAT3 シグナルに影響を与えなかった。

結論として、本研究では臨床材料と細胞株を用いて PDAC における CD109 発現の意義を解析し、腫瘍細胞と間質における CD109 の発現が PDAC の進行と予後に影響することを明らかにした。CD109 は、PDAC の予後を左右する有用なバイオマーカーであるとともに、治療のターゲットにもなりうると考えられた。