

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

| | |
|---------|---|
| 氏名 | 油座 築 |
| 学位 | 博士 (医学) |
| 学位記番号 | 新大院博 (医) 第 830 号 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第 4 条第 1 項該当 |
| 博士論文名 | Different roles of sphingosine kinase 1 and 2 in pancreatic cancer progression (膵癌におけるスフィンゴシンキナーゼ 1 型および 2 型の働き) |
| 論文審査委員 | 主査 教授 小松 雅明 副査 教授 若井 俊文 副査 教授 土田 正則 |

博士論文の要旨

【背景】スフィンゴシン-1-リン酸 (S1P) は、癌細胞の増殖や生存、血管新生やリンパ管新生など、癌の発育進展に重要な機能を制御する脂質メディエーターである。S1P は、細胞内で 2 種類の S1P 産生酵素である SphK1 と SphK2 によって産生される。SphK1 は主に細胞膜に近い細胞質に存在し、SphK1 によって産生された S1P の多くは S1P 輸送体を介して細胞外へ放出され、細胞の表面に分布する S1P 受容体を介し生理学的機能を発揮する。過去の報告では、乳癌の発育進展における SphK1 の重要性や、肝臓における SphK2 の脂質代謝への関与などが明らかにされている。しかし、膵癌における S1P および S1P 産生酵素の役割は明らかではない。申請者らは S1P ならびに S1P 産生酵素が膵癌の発育進展に重要な役割を果たしているという仮説を立てた。本研究の目的は、膵癌患者における腫瘍内 S1P 濃度を測定すること、ならびに S1P 産生酵素ノックアウト (KO) 膵癌細胞を作成し、その機能解析を行うことで膵癌における S1P 産生酵素の役割を明らかにすることである。

【対象と方法】説明と同意が得られた膵癌手術症例 10 例を対象とし、癌部および非癌部組織を採取し、S1P を含むスフィンゴリン脂質の濃度を質量分析装置により定量した。また、マウス由来膵癌細胞株である PAN02 細胞に対して、SphK1 遺伝子と SphK2 遺伝子を、CRISPR/Cas9 を用いて KO した。KO 細胞と野生型 (WT) 細胞を用いて増殖アッセイとスクラッチアッセイを行い、増殖能や遊走能を検討した。ジェムシタビン投与を行い、同様に増殖能を比較した。これらの細胞をマウスに腹注して腹膜播種モデルを作成し、生存期間を比較した。

【結果】膵癌臨床検体におけるスフィンゴシン、デヒドロスフィンゴシン、S1P、デヒドロ S1P は非癌部と比較し癌部において有意に高い値を示した ($P < 0.001$)。細胞実験では、SphK2 KO 細胞の増殖能は、WT 細胞よりも有意に低く ($P < 0.05$)、SphK1 KO 細胞の増殖能は WT 細胞よりも有意に高かった ($P < 0.05$)。スクラッチアッセイにおいても、SphK2 KO 細胞の遊走能が WT 細胞よりも有意に低く ($P < 0.05$)、SphK1 KO 細胞の遊走能は WT 細胞よりも有意に高かった ($P < 0.05$)。一方、ジェムシタビン投与を行った SphK1 KO 細胞の増殖能は WT 細胞よりも有意に低く ($P < 0.05$)、SphK2 KO 細胞の増殖能は WT 細胞よりも有意に高かった ($P < 0.05$)。マウス腹膜播種モデルでは、SphK2 KO 細胞移植マウスは、WT 細胞移植マウスより生存期間が長く ($P = 0.15$)、SphK1 KO 細胞移植マウスは、WT 細胞移植マウスよりも生存期間が有意に短かった ($P = 0.0011$)。

【考察】膵癌組織におけるスフィンゴリン脂質が癌部において非癌部より一様に高値を示し、膵癌

における S1P の関連が示唆された。通常の細胞培養下での SphK1 KO 細胞は WT 細胞と比較して細胞の増殖能、遊走能が高く、マウス腹膜播種モデルでも SphK1 KO 細胞移植マウスの生存期間が短縮したことから、膵癌の発育進展には SphK2 が重要な役割を有する可能性が考えられた。一方、ジェムシタビン投与を行った SphK1 KO 細胞の増殖能は WT 細胞よりも低く、SphK2 KO 細胞の増殖能は WT 細胞よりも高かったことから、SphK1 は抗癌剤耐性に関与する可能性が考えられた。

【結論】膵癌において S1P は腫瘍の発育進展に関与している。SphK1 と SphK2 によって産生される S1P は、膵癌細胞において異なる機能を有する可能性が示唆された。臨床応用へ向けた更なる研究が望まれる。

審査結果の要旨

スフィンゴシン-1-リン酸 (S1P) は、癌細胞の増殖や生存、血管新生やリンパ管新生など、癌の発育進展に重要な機能を制御する脂質メディエーターである。S1P は、細胞内で 2 種類の S1P 産生酵素である SphK1 と SphK2 によって産生される。本研究では、膵癌患者における腫瘍内 S1P 関連代謝物濃度の測定と S1P 産生酵素ノックアウト (KO) 膵癌細胞株の機能解析により、SphK1 と SphK2 の膵癌における役割を明らかにすることを目的とした。

膵癌臨床検体における S1P 関連代謝物は非癌部と比較し癌部において有意に高い値を示した。SphK2 KO マウス膵癌細胞の増殖能、遊走能ともにコントロール細胞よりも有意に低く、SphK1 KO 細胞ではどちらも有意に高かった。一方、ジェムシタビン投与を行った SphK1 KO 細胞の増殖能はコントロール細胞よりも有意に低く、SphK2 KO 細胞の増殖能は有意に高かった。マウス腹膜播種モデルでは、SphK2 KO 細胞移植マウスは、コントロール細胞移植マウスより生存期間が長く、SphK1 KO 細胞移植マウスは生存期間が有意に短かった。これらのことは、SphK2 によって産生された S1P が膵臓癌の細胞増殖と細胞移動を促進する一方、SphK1 によって産生された S1P は抗癌剤抵抗性を支持することを意味する。

これら新規性を鑑みて、学位論文としての価値を有すると判断した。