

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 20 日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591014

研究課題名(和文)自己免疫性膵炎におけるBAFF, APRILの臨床的有用性についての検討

研究課題名(英文)Clinical Significance of BAFF and APRIL in AIP

研究代表者

熊木 天児(Kumagi, Teru)

愛媛大学・医学(系)研究科(研究院)・寄附講座准教授

研究者番号：30594147

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：自己免疫性膵炎(AIP)や悪性疾患の病態にBAFFが関与している事が示されているが、その役割は不明である。本研究では、AIPおよび膵癌におけるBAFFの役割を明らかにする。膵癌患者の血清・組織および膵癌細胞株を用いた基礎的検討の結果、遠隔転移のある膵癌患者において血清濃度の上昇しているBAFFは、膵癌細胞周囲に浸潤するB細胞から産生され、EMTを介して膵癌の進展に関与していることを見出した。また、AIP患者の組織および血清、AIP類似マウスモデルを用い、BAFFを含む各種サイトカイン・ケモカインについて解析し、Lymphotoxin β がAIPの病態に関わる新しい因子であることを見出した。

研究成果の概要(英文)：Although high serum levels of B cell-activating factor (BAFF) are reported in patients with autoimmune pancreatitis (AIP) and some malignant diseases, its role in the pathogenesis remains unclear. In this study, we aimed to understand the role of BAFF in the pathogenesis of AIP and pancreatic cancer (PC). First, using serum and pancreatic tissues from patients with PC, and PC cell line, we showed that BAFF was elevated in patients with metastatic advanced PC and induced alterations in PC cells via regulation of EMT-related genes. Second, using serum and pancreatic tissues from patients with AIP, and mice with various features of AIP, we identified that overexpression of lymphotoxin (LT) beta specifically in acinar cells of mice caused features of AIP.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：自己免疫性膵炎 膵癌 BAFF APRIL 鑑別診断 治療効果判定

1. 研究開始当初の背景

申請者はB細胞の生存、分化、抗体産生に重要な役割を持ち、また自己免疫性疾患の発症への関与が示唆されている BAFF(B cell activating factor belong to the tumor necrosis factor family)が自己免疫性膵炎(AIP)患者の血清中で増加していることを明らかにした。しかし、同疾患においてBAFFが増加する機序およびBAFFに関連するAPRIL(A proliferation-inducing ligand)との関係については不明である。

2. 研究の目的

本研究では、AIPの診断及び治療効果判定におけるBAFF及びAPRILの有用性について前向きに検討するとともに、BAFF及びAPRILのAIPで増加する機序について解析することを目的とした。

3. 研究の方法

AIP、対照となる慢性膵炎、膵癌、胆管癌及び健常人の血清BAFF濃度、血清APRIL濃度を測定し、AIPの診断および治療効果判定における血清BAFF濃度及び血清APRIL濃度の意義を検討する。また、BAFF、APRIL及び関連するBAFF-R、BCMA及びTACIのAIP患者の膵組織における発現については、免疫組織染色法で検討する。さらに、膵組織を用いてマイクロアレイ、プロテオミクスによる網羅的解析により、AIPにおいてBAFF及びAPRILに関連する新たな分子の同定を試みる。

なお、当初の研究方法は上記の通りであったが、研究期間内に想定されたAIPの症例数に達しそうになかったため、下記の通り変更となった。また、本研究の対象となった膵癌に関して県内の実態調査を行った。

4. 研究成果

(1) 膵癌におけるBAFFの役割 (発表論文1)

血清BAFF濃度が乳癌などの悪性腫瘍でも高値を示す事に注目し、膵癌患者の血清および組織を用いて詳細な検討を行った。

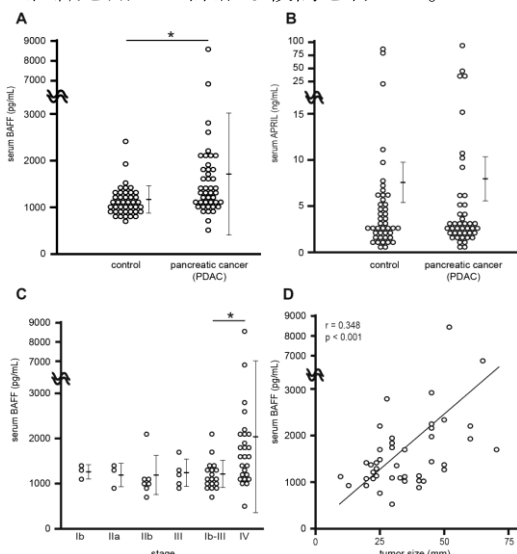


図1. 膵癌における血清BAFFとAPRIL濃度

その結果、膵癌症例の血清BAFF濃度は、健常人と比較して有意に上昇していた(図1:P=0.0121)。とくに遠隔転移のある膵癌症例において血清BAFF濃度が上昇しており、血清BAFF濃度と原発巣の腫瘍径の間には正の相関がみられた。なお、膵癌症例と健常人の血清APRIL濃度に差はみられなかった。

また、膵癌組織において膵癌細胞周囲に浸潤するB細胞はBAFFが陽性であった。膵癌細胞ではBAFF-Rが陽性であり、TACIとBCMAは陰性であった。以上より、膵癌の病態、特に転移・浸潤にBAFFが作用している事が示唆された。

そこで、膵癌細胞株を用いたBAFF作用の基礎的検討を行った。その結果、用いた膵癌細胞株すべてにBAFF-Rが発現していたが、TACIとBCMAは発現していなかった。膵癌細胞株の一種であるPANC-1にBAFFを添加したところ紡錘状の形態変化がみられた。このことから、EMT関連遺伝子について検討したところ、PANC-1へのBAFF添加により、E-cadherinの発現が減少し、vimentinおよび転写因子であるSnailの発現が増加した。また、BAFF添加によりPANC-1の運動能と浸潤能は亢進し、その変化はBAFF-R阻害抗体を添加することにより抑制された。次いで、PANC-1にBAFF-R発現プラスミドを導入してBAFF-Rを高発現する膵癌細胞株クローンを複数作製した。その結果、それらの細胞株ではBAFF-Rのシグナル伝達経路であるNF-κB2の活性化がみられ、BAFF添加時と同様にE-cadherinの減少、vimentinおよびSnailの増加および運動能の亢進がみられた。

以上より、BAFFは転移のある膵癌症例で血清濃度が上昇し、膵癌細胞のEMT関連遺伝子を変化させ、膵癌細胞の運動能および浸潤能を亢進させることを明らかにした(図2)。膵癌の進展にかかわるBAFFは、膵癌の治療標的となりうる可能性があると考えられた。

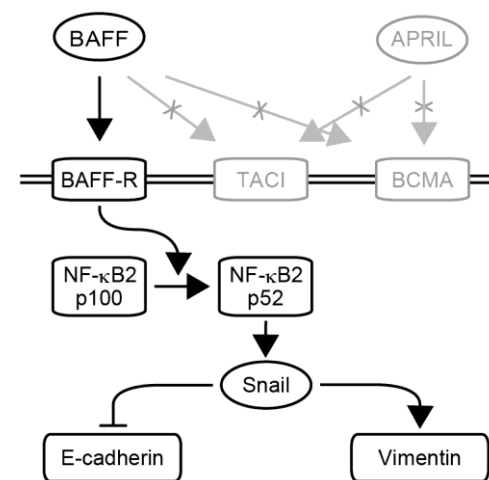


図2. BAFFによる膵癌細胞の機能変化

(2) AIP の病態に関与する因子の同定 (発表論文 4)

血清 APRIL 濃度を測定したところ、AIP と他の疾患に有意差はなかった。そこで、AIP 患者および慢性膵炎患者の組織および血清を用い、PCR 法、ELISA 法および免疫染色法により、BAFF を含む各種サイトカイン・ケモカインについて解析した。

その結果、AIP では Lymphotoxin (LT)- β および LT- α の発現が増強していた (図 3)。

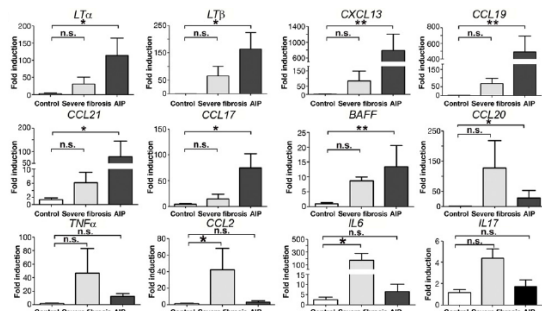


図 3. 自己免疫性膵炎と各種サイトカイン

また、LT 関連のケモカインはステロイドにより影響を受けなかった。基礎的検討では、LT- β および LT- α が特異的に膵腺房細胞で強発現され、膵病変および膵外病変を発症する AIP 類似マウスモデルを作成し、各種サイトカイン・ケモカインについてステロイドの有無で解析した。その結果、Lymphotoxin β が AIP の病態に関わる新しい因子であることを見出した。

(3) 愛媛県膵癌診療の実態 (発表論文 2, 3)
2001 年～2010 年までに愛媛県内多施設で膵癌と診断された 1082 例を対象に性別、年齢、診断日、病期、治療法、治療選択の理由、転帰についてデータを収集し、患者背景、治療法の変遷、生存期間について解析した。

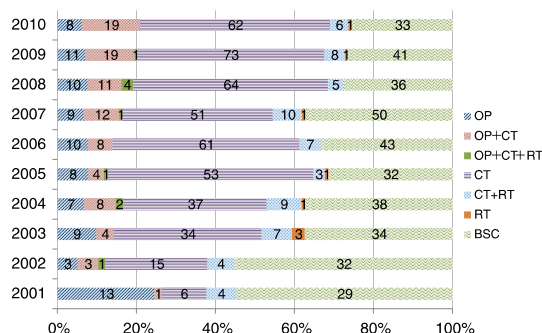


図 4. 膵癌の年代別治療法の変化
(OP, operation; CT, chemotherapy; RT, radiation; BSC, best supportive care)

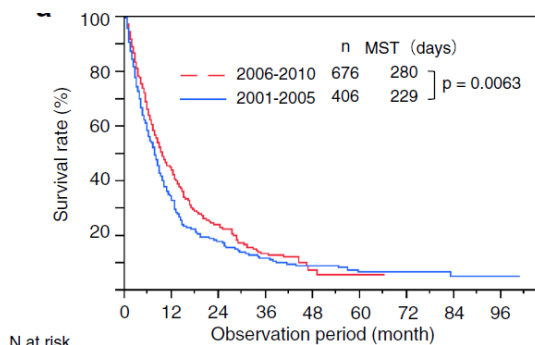


図 5. 膵癌の年代別生存期間の変化

その結果、新規化学療法時代における愛媛県膵癌診療の現状が明らかとなり、化学療法 (CT) を選択する症例の増加により (図 4)、2006 年以降の生存率は向上していることが分かった (図 5)。

また、少数例での検討ではあるが、膵癌 stage IVb 患者の予後を規定する因子は、診断時におけるアルブミン値、HbA1c と腹水であり、治療方針を決定する際に考慮すべき因子と考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

1. Koizumi M, Hiasa Y, Kumagi T, et al., Increased B cell-activating factor promotes tumor invasion and metastasis in human pancreatic cancer. PLoS One. 2013 Aug 6;8(8):e71367. 査読あり。
2. Kuroda T, Kumagi T, Yokota T, et al., as the Ehime Pancreato-Cholangiology (EPOCH) Study Group. Improvement of long-term outcomes in pancreatic cancer and its associated factors within the gemcitabine era: A collaborative retrospective multi-center clinical review of 1,082 patients. BMC Gastroenterology 2013, 13:134. 査読あり
3. 畔元信明、熊木天児、黒田太良 他. 当科で経過をおえた膵癌 stage IVb 死亡症例における予後因子の検討. 愛媛医学 2013; 32: 15-18. 査読あり
4. Seleznik GM, Reding T, Kumagi T, et al. Lymphotoxin β Receptor Signaling Promotes Development of Autoimmune Pancreatitis. Gastroenterology 2012; 143: 1361-74. 査読あり

[学会発表] (計 7 件)

1. 第 44 回日本膵臓学会大会 (2013. 7. 25-26 仙台): 膵癌進展に及ぼす B 細胞活性化因子 (BAFF) の作用. 小泉光仁, 日浅陽一,

- 熊木天児, 阿部雅則, 松浦文三, 恩地森一
2. 第 99 回 日本消化器病学会四国支部例会 (2013. 6. 29-30 高知) : 新規化学療法時代における愛媛県膵癌診療の現状と展望。熊木天児, 黒田太良, 横田智行, 清家裕貴, 西山麻里, 今井祐輔, 稲田 暢, 柴田直純, 今峰 聡, 岡田眞一, 小泉光仁, 山西浩文, 畔元信明, 長谷部昌, 田中良憲, 達川はるか, 宇都宮大貴, 恩地森一, 日浅陽一
 3. Digestive Disease Week 2013 (2013. 5. 18-21 Orlando, USA) : Changes in the characteristics and prognosis of pancreatic cancer within the gemcitabine era and the issues facing elderly patients. Kuroda T, Kumagi T, Yokota T, Seike H, Miyaike J, Nishiyama M, Imai Y, Tatsukawa H, Shibata N, Koizumi M, Yamanishi H, Azemoto N, Abe M, Matsuura B, Hiasa Y, Onji M
 4. Digestive Disease Week 2013 (2013. 5. 18-21 Orlando, USA) : Increased B cell-activating factor promotes epithelial-mesenchymal transition in human pancreatic cancer. Koizumi M, Hiasa Y, Kumagi T, Yamanishi H, Azemoto N, Abe M, Ikeda Y, Matsuura B, Onji M
 5. 第 99 回日本消化器病学会総会 (2013. 3. 21-23 鹿児島) : 高齢者に対する膵癌診療の実態および問題点。黒田太良, 熊木天児, 小泉光仁, 畔元信明, 山西浩文, 恩地森一, 横田智行, 清家裕貴, 長谷部昌, 今井祐輔, 田中良憲, 稲田暢
 6. 第 54 回日本消化器病学会大会 (2012. 10. 10-13 神戸) : 愛媛県消化器内科における膵癌診療の実態。黒田太良, 熊木天児, 小泉光仁, 畔元信明, 山西浩文, 恩地森一, 横田智行, 清家裕貴, 上原貴秀, 今井祐輔, 達川はるか, 宇都宮大貴, 西山麻里, 稲田 暢, 芝田直純, 今峰 聡, 岡田眞一
 7. 第 43 回日本膵臓学会大会 (2012. 6. 28-29 山形) : 当科における膵癌 stage IVb 患者の予後を規定する因子の検討。畔元信明, 熊木天児, 山西浩文, 黒田太良, 小泉光仁, 阿部雅則, 松浦文三, 日浅陽一, 恩地森一

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕
ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

熊木 天児 (Kumagi, Teru)
愛媛大学大学院医学系研究科
寄附講座准教授
研究者番号 : 30594147

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし