

【緒言】 浸潤性膵管癌（膵癌）の予後は不良であり、その治療は非常に困難である。切除不能膵癌に対する化学療法として、ゲムシタビンが標準レジメンとして使用されているが、膵癌におけるゲムシタビンに対する抵抗性が問題となっている。

STAT (signal transducer and activator of transcription) は 7 種のファミリーが存在し、さまざまな遺伝子の発現を誘導する。そのうち STAT5b は肝細胞癌などの固形癌において増殖、アポトーシス、浸潤への関与が報告されているが、膵癌における STAT5b に関する報告は少ない。今回、我々はヒト膵癌細胞における STAT5b の発現と生物学的役割について検討した。

【方法】 8 種のヒト膵癌細胞株を用いて RT-PCR、Western Blot 法 (W.B 法) により STAT5b の発現を検討し、confocal analysis、cell fraction を用いた W.B 法により核内、細胞質内発現を検討した。さらに免疫沈降法で、STAT5b のチロシンリン酸化を検討した。次に、STAT5b の高発現株である PANC-1 を用いて STAT5b shRNA plasmid を stable transfection して clone を作成し、MTT assay で増殖能を検討した。また、ゲムシタビン投与後に MTT assay を行ってゲムシタビンに対する抵抗性を評価し、invasion assay、adhesion assay にて浸潤能、接着能を検討した。また、STAT5b 低発現株である AsPC-1 および BxPC3 と PANC-1 においてゲムシタビンに対する抵抗性を比較し、さらに AsPC-1 を用いて STAT5b overexpression clone を作成し、増殖能、ゲムシタビンに対する抵抗性を検討した。ゲムシタビンを投与した浸潤性膵管癌 44 症例を用いて臨床病理学的検討を行った。

【結果】 全ての細胞株で STAT5b mRNA と同蛋白の発現を確認し、また核内および細胞質内に STAT5b の発現を認めた。免疫沈降法では STAT5b のチロシンリン酸化を認めた。STAT5b shRNA clone を用いた検討では、control と比較して増殖能に有意差は認められなかったが、ゲムシタビン投与後では control と比較して生存細胞が有意に減少した。AsPC-1、BxPC3 と PANC-1 を用いたゲムシタビン投与後の MTT assay では、STAT5b 低発現株の AsPC-1 と BxPC3 でそれぞれ PANC-1 と比較して生存細胞数が有意に減少した。STAT5b overexpression clone は、control と比較して増殖能に有意差は認めなかったが、ゲムシタビン投与後では有意に生存細胞数が増加した。また、STAT5b shRNA clone に対してゲムシタビン投与後の蛋白を用いた W.B 法では、STAT5b shRNA clone でアポトーシス関連蛋白である cleaved caspase 3、PARP の高発現を認め、また抗アポトーシス蛋白である Bcl-xL の発現抑制を認めた。Invasion assay、adhesion assay では有意に EGF、PDGF により誘導される浸潤能、細胞外基質に対する接着能が抑制された。臨床病理学的検討では、STAT5b 高発現群と低発現群間で全生存期間の有意差は認められなかったが、STAT5b 高発現群で主膵管内進展陽性率が有意に高かった。

【考察】 今回の検討により膵癌細胞において **STAT5b** の細胞質内、核内での発現とチロシンリン酸化が認められ、**STAT5b** の膵癌細胞における恒常的活性化が示された。PANC-1 **STAT5b shRNA** を用いた検討では、**STAT5b** は増殖能には寄与しないがゲムシタビン投与後の生存細胞数の減少を認めた。また内因性 **STAT5b** 低発現膵癌細胞株では高発現株に比しゲムシタビン投与後の有意な生存細胞数の減少を認め、一方 **STAT5b overexpression clone** を用いた検討においては、ゲムシタビン投与後では生存細胞数が増加し、さらに臨床病理学的検討でも有意差はないが**STAT5b** 低発現群に生存期間が延長する傾向が見られた。以上から **STAT5b** のゲムシタビン感受性への関与が強く示唆された。**STAT5b** は **Bcl-xL** を誘導することが知られており、今回の結果から膵癌において **STAT5b** が **Bcl-xL** を誘導することでアポトーシスに対する抵抗性を獲得し、ゲムシタビン感受性が低下する機序が存在していると考えられた。

我々の検討では細胞外基質への接着と **EGF**、**PDGF** により誘導される細胞浸潤が **STAT5b** を抑制することにより有意に減少し、さらに臨床病理学的検討においても **STAT5b** 高発現群で主膵管内進展陽性率が有意に高かったことから、**STAT5b** が膵癌において細胞接着、浸潤に関与し、さらに **EGF**、**PDGF** シグナル経路における重要な役割を担っている可能性が示された。

【結語】 膵癌において、**STAT5b** の発現と恒常的活性化が確認され、またゲムシタビンに対する感受性、アポトーシス、浸潤、接着への関与が示された。**STAT5b** を標的とした膵癌治療が有効である可能性が示唆された。