

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名	XU HENAN
学位	博士 (理学)
学位記番号	新大院博 (理) 第 386 号
学位授与の日付	平成 26 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
博士論文名	Studies on Enhancement of Phagocytosis and Cytotoxicity in Macrophages by IL-18-Stimulation. (インターロイキン 18 刺激によるマクロファージの貪食機能および細胞傷害性活性増強に関する研究)
論文審査委員	主査 教授・前野 貢 副査 教授・長束 俊治 副査 教授・内海 利男 副査 准教授・杉本 健吉

博士論文の要旨

マウス培養細胞株である NFSA 細胞及び MS-K 細胞をそれぞれマウス皮下に移植すると、ともにそれぞれ巨大な腫瘍を形成する。MS-K 腫瘍では血管新生が良好であるのに対し、NFSA 腫瘍では血管新生が不良であり、その中心部に壊死が起きる。これまでの研究から両腫瘍細胞の産生する血管内皮細胞増殖因子の産生量はほぼ同じであり、何故 NFSA 腫瘍で血管新生が阻害されるのか、その分子的なメカニズムは明らかではなかった。

本論文は、NFSA 腫瘍に認められる血管新生不良の原因解明を目指したものである。自動細胞解析捕集装置(FACS)を用いてこの NFSA 腫瘍中の細胞を単離解析し、MS-K 腫瘍に比べて M1 タイプマクロファージが蓄積していることを明らかにした。また NFSA 細胞ではインターロイキン-18 (IL-18) を高発現していることもマイクロアレイ解析により明らかにした。そこでマクロファージの生理活性に及ぼす IL-18 の影響を培養細胞株 RAW264 及びマウス腹腔から単離したマクロファージを用いて *in vitro* で解析した。その結果、蛍光マイクロビーズの取り込みを測定することにより、IL-18 がマクロファージ細胞株 RAW264 及びマウス腹腔由来マクロファージの貪食作用を増強すること、IL-18 により活性化されたマクロファージでは腫瘍壊死因子 (TNF- α)、インターロイキン-6 (IL-6) ならびに一酸化窒素合成酵素 (Nos2) 等の遺伝子発現も増加していること等を明らかにした。さらに抗 IL-18 中和抗体を加えることによりこの増強作用が抑制されたことから、これが IL-18 の作用によるものであることを明確に示した。また IL-18 で活性化された RAW264 細胞が血管内皮細胞株 F-2 との共培養において、直接的にこの内皮細胞を傷害する事も明らかにした。

さらに RAW264 細胞と F-2 細胞の共培養実験において、これら両者の直接接触を妨げた場合でも RAW264 細胞が F-2 細胞に対する傷害性を示すことを明らかにし、一酸化窒素合成酵素に対する特異的阻害剤を用いることで、これに一酸化窒素が関与していることを明確に示した。これらを総合して腫瘍細胞が産生する IL-18 により活性化されたマクロファ

ージは、その貪食能が増強されるとともに、液性因子や細胞間相互作用により血管内皮細胞に対して傷害を及ぼすことを明らかとした。従って、高い IL-18 産生能を示す NFSA 腫瘍においては、この IL-18 によりマクロファージが活性化されて血管新生が傷害され、その結果、腫瘍組織の壊死が誘導されるものと結論した。

審査結果の要旨

本論文は、NFSA 腫瘍における壊死の原因が、NFSA 細胞の産生する IL-18 とこの腫瘍に集まる M1 タイプマクロファージによって血管新生が阻害されるためであることを細胞生物学的、分子生物学的に明らかにしたものである。腫瘍微小環境を構成する細胞の一員であるマクロファージが腫瘍における血管新生に重要な役割を担うことを明確に示すことができ、血管新生制御分野における研究に重要な発見をもたらすものであり、高く評価される。

本研究の内容の一部は第 35 回日本分子生物学会において本人が口頭発表するとともに、本論文内容をまとめたものが **BMB Report** に筆頭著者として受理 (2013 年 9 月 5 日)されている。

以上のことから、本申請論文は、博士 (理学) の学位論文として十分な内容をもつものであると判断された。