

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名	XING YANJIANG
学位	博士(理学)
学位記番号	新大院博(理)第409号
学位授与の日付	平成28年3月23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 of the Functions of Tumoricidal Factors on MS-K Tumor Formation and Angiogenesis (MS-Kの肉腫形成および血管新生に及ぼす殺腫瘍因子の機能に関する研究)
論文審査委員	主査 准教授・杉本 健吉 副査 教授・前野 貢 副査 教授・長束 俊治 副査 助教・藤間 真紀

博士論文の要旨

腫瘍の成長は、腫瘍細胞に酸素と栄養分を輸送する血管に依存する。腫瘍組織の周囲には、腫瘍ニッチと呼ばれる微小環境が形成され、宿主由来の血管内皮細胞、間質細胞や免疫細胞が集まり、これらの産生する血管内皮細胞増殖因子、血小板由来増殖因子、線維芽細胞増殖因子、インターロイキンとケモカイン等の各種のタンパク質因子が、それらのレセプターを通してシグナルを伝え、腫瘍への血管新生に働く。これまでに国内外で腫瘍ニッチ内の免疫細胞やタンパク質因子が、腫瘍形成と血管新生促進に働く事を示す数多くの報告があるが、これとは逆に、腫瘍ニッチェに集まる免疫細胞の抗腫瘍機能については、詳しく調査されな

いま残っていた。

先行する研究により、インターロイキン-18(IL-18)と C-C 型のケモカインリガンド 11(CCL11)が、血管新生が良好な腫瘍を生じる MS-K 細胞に比べて、血管新生が不良で肉腫内部が壊死を起こす腫瘍を形成する NFSa 細胞株で高く発現している事を見つけていた。また IL-18 により活性化されたマクロファージが、試験管内で内皮細胞の破壊を引き起こす事が示されていた。しかしながら、IL-18 の生体内における血管新生に対する役割や肉腫に浸入する免疫細胞の起源は、解明されていなかった。本論文は、これらの細胞株を使用して、腫瘍に於ける血管新生と免疫細胞の蓄積に対する IL-18 と CCL11 の役割を解明しようとしたものである。

本論文ではまず始めに、IL-18 の血管新生に及ぼす役割を明らかにするために、IL-18 を過剰発現する MS-K 細胞クローン株 (MS-K-IL-18) を樹立した。この細胞における IL-18 の過剰発現は、インビトロにおける MS-K-IL-18 細胞の増殖を抑制すると共に、移植した MS-K-IL-18 細胞による腫瘍の血管新生を抑制した。さらに腫瘍に浸潤する細胞を FACS を用いて解析すると、MS-K-IL-18 腫瘍由来の CD14 陽性の細胞で、M1 タイプマクロファージのマ

ーカーであるインターロイキン6の発現上昇を検出した。また、親株のMS-K腫瘍に比べてCD11b<sup>+</sup>/CD80<sup>+</sup>のM1マクロファージがMS-K-IL-18腫瘍において多く蓄積している事を明らかにした。

以上の結果は、IL-18を過剰発現させた肉腫に、抗腫瘍活性を持つM1タイプマクロファージが集積することを意味する。さらに、IL-18で刺激されたマクロファージが、血管内皮細胞にアポトーシスを誘導する事をインビトロの共培養分析により明らかにし、これにより血管新生が傷害される事を明らかにした。

次に本論文では、CCL11に動員された免疫細胞の血管新生と腫瘍形成における役割を明らかにするため、CCL11を過剰発現するMS-K細胞クローン(MS-K-CCL11)を樹立した。試験管内における増殖率とコロニー形成能力は、MS-K-CCL11と親株のMS-K細胞の間で殆ど同じであったが、MS-K-CCL11細胞は、興味深いことに、マウスで腫瘍を形成することができなかった。そこで、NFSA腫瘍に浸潤する細胞についてさらに詳細に解析した結果、好酸球がMS-K腫瘍に比べて多いことを見つけた。本論文ではさらに、CCL11が骨髄細胞から好酸球を誘導する事、CCL11が好酸球に対してケモタシス活性を持つ事、CCL11によって誘導された好酸球が、血管内皮細胞のみならず肉腫細胞に対しても傷害性を示す事、好酸球のCCL11受容体に対するアンタゴニストの導入は、NFSA腫瘍に於ける血管新生を部分的に回復する事などを示し、CCL11と肉腫に集まる好酸球の役割を明らかにした。

#### 審査結果の要旨

本論文は、腫瘍が産生するIL-18がM1タイプのマクロファージを腫瘍に誘引し、血管内皮細胞のアポトーシスを誘導することによって腫瘍の壊死を引き起こすこと、また腫瘍の産生するCCL11が好酸球の分化誘導を促進するとともに、CCL11によって誘導された好酸球が血管内皮細胞のみならず、肉腫細胞も攻撃しこれを傷害す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。腫瘍の産生するタンパク質因子により腫瘍ニッチェに集まる免疫細胞が抗腫瘍機能を持つ事を明らかにし、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として高く評価される。

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Genes to Cellsに筆頭著者として受理され、Genes to Cells, volume 21, No. 3への掲載が決定している。

よって、本論文は博士(理学)の博士論文として十分であると認定した。