



Title	Hypoxia drives the formation of lung micropapillary adenocarcinoma-like structure through hypoxia-inducible factor-1 α
Author(s)	梅田, 大介
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/101779
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	梅田 大介
論文題名 Title	Hypoxia drives the formation of lung micropapillary adenocarcinoma-like structure through hypoxia-inducible factor-1 α (肺微小乳頭癌様構造の形成には低酸素環境によるhypoxia-inducible factor-1 α の活性化が重要である)
論文内容の要旨 〔目 的(Purpose)〕 肺癌は日本だけでなく世界においても、部位別がん死亡数の第一位であり、その約半数を占める組織型が肺腺癌である。肺腺癌の組織型には置換型、腺房型、充実型、乳頭型（Papillary carcinoma; PC）、微小乳頭型（Micropapillary carcinoma; MPC）があり、肺腺癌ではこれら複数の組織型が一つの腫瘍内に混在していることが一般的である。これら組織型の中でMPCは予後不良因子とされている。MPCは間質を持たない癌細胞集塊で構成されており、これら細胞集塊の外周にはMUC1と呼ばれるタンパク質が発現している。MUC1は上皮頂底極性の頂部側マーカーであり、MPCでは通常細胞集塊内側に形成される頂部側が細胞外周に存在することから、反転極性を呈すると考えられている。MPCを <i>in vitro</i> において再現することは困難であり、その発生および悪性化機構は不明であった。そこで本研究では、MPC培養モデルを構築し、その発生および悪性化の分子機構解明を目的とした。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 先ず初めに、PCとMPCを含む肺腺癌手術検体を用いて、空間的トランスクリプトーム解析を行った。その結果、MPCではPCと比較してhypoxia-inducible factor (HIF)-1 signalingが活性化していることが示唆された。HIF-1 signalingは低酸素下において活性化することから、低酸素環境と三次元培養法を組み合わせたMPC培養モデルの構築を試みた。マトリゲル上に種々の肺腺癌由来細胞株を播種し、低酸素（1%酸素）下で5日間培養後、頂部側マーカーであるphosphor-Ezrin/Radixin/Moesin（pERM）の免疫染色を行った。マトリゲル上に形成された癌細胞集塊の外周の半周以上においてpERMの局在が認められたものをMPC様構造体（MPC-like structure; MLS）と定義し、全癌細胞集塊に占めるMLSの割合を計測した。その結果、A549細胞においてのみ、低酸素下においてMLSの形成亢進が認められた。また、これらMLSではMUC1が発現が亢進しており、MLSの外周にMUC1が局在していた。次に、MLS形成A549細胞とMPCの遺伝子発現パターンを比較するために、肺腺癌のpublic microarray datasetを用いて、他の組織型と比較してMPCにおいて発現が亢進している遺伝子を50個同定し、MPC signature genesと定義した。RNA-sequencing解析において、MLS形成A549細胞ではMPC signature genesが発現が亢進しており、MLSはMPCの形態だけでなく遺伝子発現パターンも模倣していると考えられた。MLS形成の分子機構を解明するため、HIF-1 signaling活性化に重要なHIF-1 α のノックアウトA549細胞を作製し機能解析を行った。その結果、HIF-1 α ノックアウトA549細胞では低酸素下で誘導されるMLS形成およびMUC1発現亢進が顕著に抑制された。低酸素環境およびHIF-1 α はがんの免疫回避能亢進に関与することが複数報告されていることから、低酸素下で誘導されるMLS形成A549細胞のNatural killer（NK）細胞の細胞障害活性に対する感受性をLDHアッセイにより検討した。その結果、MLS形成A549細胞ではNK細胞の細胞障害活性に対する抵抗性が亢進していた。さらに、このNK細胞の細胞障害活性に対する抵抗性亢進はHIF-1 α ノックアウトA549細胞では認められなかった。 〔総 括(Conclusion)〕 我々は、A549細胞を低酸素下でマトリゲル三次元培養することにより、MPCの形態および遺伝子発現パターンを模倣したMLSの形成に成功した。さらに、MLSの形成およびNK細胞の細胞障害活性に対する抵抗性亢進にはHIF-1 α が重要であることをHIF-1 α ノックアウトA549細胞を用いて明らかにした。今回の我々の研究結果から、肺腺癌がMPCを含む複数の組織型で構成されることの原因および組織型の悪性度がそれぞれ異なる原因として、酸素濃度に依存した癌細胞集塊の形態変化および免疫回避能変化の関与が示唆された。また、MPCに対してHIF-1 α 阻害薬が新たな治療選択肢となり得ることが示唆された。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 梅田 大介			
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	大阪大学教授	藤井 英一 署名
	副 査	大阪大学教授	野々村 祝夫 署名
	副 査	大阪大学教授	江口 英利 署名

論文審査の結果の要旨

申請者は肺腺癌の組織型の中でも悪性度の高い肺微小乳頭癌 (Micropapillary carcinoma; MPC) の発生および悪性化機構の解明を目的に研究を行った。先ず、MPCと他の肺腺癌組織型が混在している肺腺癌手術検体を用いて、空間的トランスクリプトーム解析を行った結果、MPCにおいてhypoxia-inducible factor (HIF)-1 signalingが活性化していることを明らかにした。HIF-1 signalingは低酸素下において活性化することから、ヒト肺腺癌由来細胞株を低酸素下で培養することによりMPC培養モデルの構築を試みた。その結果、A549細胞を低酸素下三次元培養することにより、MPC様構造体を誘導することに成功した。さらに、このMPC様構造体の形成にはHIF-1 signalingにおいて重要な転写因子であるHIF-1 α が必須であることをHIF-1 α ノックアウトA549細胞を用いて証明した。また、MPC様構造体では腫瘍免疫において重要なNatural killer (NK) 細胞の細胞障害活性に対する感受性が低下していることを明らかにし、この感受性低下にもHIF-1 α が重要であること証明した。以上の成果は、肺腺癌組織型の形態および悪性度の多様性がん微小環境内の酸素濃度変化によりもたらされることを示唆しており、博士 (医学) の学位授与に値する。