



Title	がん微小環境におけるDesmoplasia誘導とE-selectin発現に関する研究
Author(s)	北平, 有紀子
Citation	大阪大学, 2026, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/105334
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

氏 名 （北 平 有 紀 子）

論文題名

がん微小環境におけるDesmoplasia誘導とE-selectin発現に関する研究

論文内容の要旨

以下本文

【緒言】

がん治療における問題点の一つに薬物療法耐性の問題がある。薬物療法耐性には、薬物療法の治療効果がはじめから見込めない、「初めから薬物療法耐性を持つもの」と、治療初期には効果があるものの、時間とともにその効果が減弱する「薬物療法耐性を獲得するもの」が存在することが知られている。近年、この薬物療法耐性にはがん微小環境(腫瘍微小環境、Tumor microenvironment : TME)の関与も重要であるという考え方が広く認知されるようになってきている。TMEの関与として、固形腫瘍の線維化を伴う間質増生を示す、いわゆるDesmoplasiaによる薬剤送達障害、免疫抑制性細胞の浸潤、低酸素環境による薬剤感受性の低下があげられている。また一般的に、炎症組織においては炎症性サイトカインの分泌とともに様々なタンパク質が発現していることが知られている。その中でも炎症刺激によって活性化された血管内皮細胞に発現する細胞接着分子であるE-selectinが知られており、白血球の血管内皮への接着やローリングを媒介する。TMEでは、腫瘍細胞や免疫細胞が炎症性サイトカインを分泌し、局所的な炎症状態を形成し、血管内皮細胞におけるE-selectinの発現が誘導される。また、一部の薬物療法や放射線治療では、腫瘍局所にさらに炎症を起し、E-selectinの発現を増加させている事が知られているが、TMEにおけるE-selectin発現の役割については不明な点も多い。本研究の目的は、口腔癌のTMEにおける薬物療法後のDesmoplasia誘導とE-selectin発現についてその関連性に着目し、さらにE-selectinの阻害剤として報告されているCimetidineを使用することで口腔癌の薬物療法耐性獲得への影響について検討し、臨床応用への可能性を明らかにすることである。

【方法】

口腔癌臨床検体：当教室で薬物療法を行った口腔癌患者のうち、生検および外科的切除の臨床病理標本において薬物療法前後でのE-selectinの発現を免疫組織学的に解析した。

細胞：実験にはマウス口腔扁平上皮癌細胞由来の細胞株、NR-S1-LM4細胞、MOC1細胞、およびヒト正常血管内皮細胞としてヒト臍帯静脈内皮細胞（HUVEC）を使用した。

HUVEC細胞への薬剤処理実験：HUVEC細胞を培養し、その培養液中にcis-diamminedichloro-platinum(II) (CDDP) またはInterleukin (IL) -1 β を添加し、IL-1 β (10 ng/ml) を6時間、CDDP (2.5 μ g/ml) を48時間で作用させた後、蛍光免疫細胞染色を施行した。

担癌マウスへの薬剤投与実験：6～8週齢の雄性C3H/HeマウスとC57BL/6マウス、およびE-selectinをノックアウト (KO) したC57BL/6-E-selectin-KOマウスに、NR-S1-LM4細胞またはMOC1細胞を舌尖中央に接種し、尾静脈よりCDDPを投与した。さらにCimetidine投与実験においては、CDDP投与と同時に大腿部筋肉に筋注した。対照群には、同じタイムコースで生理食塩水を投与し、舌腫瘍を摘出した。

免疫組織染色による評価：臨床検体であるヒト腫瘍組織ならびに、マウス舌腫瘍組織は、免疫組織学的解析を行った。

統計分析：実験結果データは、*in vitro* 実験の平均 $\pm$ SD および *in vivo* 実験の平均 $\pm$ SEM としてそれぞれ提示した。

【結果】

CDDPを含む抗がん剤投与前後の臨床検体における血管内皮細胞のE-selectinの発現を免疫組織染色により評価したところ、抗がん剤投与前と比較し、投与後の検体においてE-selectinの有意な発現増加を認めた。Picro-Sirius Red染色にてコラーゲン繊維を解析した結果、太くバンドル化したコラーゲン線維が有意に増加していた。

ヒト血管内皮細胞であるHUVECを用いて *in vitro* で検討した結果、CDDPで処理した細胞ではE-selectinの明らかな

発現は認めなかったが、IL-1 β で処理した細胞においては顕著なE-selectinの発現を認めた。

C3H/He担癌マウスより摘出した舌腫瘍を評価した結果、対照群と比較し、CDDP投与群において腫瘍組織内のE-selectinの発現が有意に増加していることを確認した。また、TMEに浸潤する免疫細胞とコラーゲン線維を評価したところ、対照群と比較してCDDP投与群でCD45陽性の白血球、CD163陽性のM2型腫瘍関連マクロファージ（M2-TAM）、およびバンドル化した太いコラーゲン線維は有意に増加していた。さらに、C57BL/6-E-selectin-KO担癌マウスを用いて腫瘍組織を評価したところ、野生型（WT）と比較して、KO担癌マウスではCDDP投与の有無に関わらず腫瘍組織内の白血球は有意に減少していた。さらに、KO担癌マウスのCDDP投与群ではKO担癌マウスの非投与群と比較して有意な変化は認めなかった。同様にM2-TAMについて評価したところ、WT担癌マウス、E-selectin KO担癌マウスのCDDP投与群、非投与群のそれぞれの腫瘍組織のM2-TAMに有意な変化は認めなかった。さらに、バンドル化した太いコラーゲン線維量にも変化は認めなかった。

次に、HUVECへのIL-1 β 処理により発現が誘導されたE-selectinをCimetidineが抑制できるかどうかを蛍光細胞免疫染色で確認した。その結果、IL-1 β 単独で処理したHUVEC細胞と比較し、Cimetidine添加後にIL-1 β を添加したHUVEC細胞ではE-selectinの発現が抑制されていた。

最後に、Cimetidine投与によりE-selectin発現を抑制させることでCDDP投与によるTMEの変化にどのような影響が出るかを解析した。C3H/He担癌マウスへCDDPを投与し、それと同時にCimetidineを投与し、摘出した舌腫瘍組織を免疫組織学的に評価したところ、CDDP投与で発現が上昇していたE-selectinのCimetidine投与による有意な発現低下を認め、白血球は、CDDP単独群と比較してCDDP/Cimetidine併用群で有意に減少していた。さらに、M2-TAMについて評価したところ、白血球と同様にCDDP単独群と比較してCDDP/Cimetidine併用群で有意に減少していた。さらに、Picro-Sirius Red染色にてバンドル化した太いコラーゲン線維の量を解析した結果、CDDP単独群と比較してCDDP/Cimetidine併用群で舌腫瘍組織にバンドル化した太いコラーゲン線維量は有意に減少しておりDesmoplasia誘導が抑制されていた。

【結論】

本研究では、口腔癌における薬物療法後のTMEの変化に着目し、特にDesmoplasia誘導と血管内皮細胞に発現するE-selectinとの関連性を解析した。その結果、口腔癌において抗癌剤投与により腫瘍血管内皮細胞におけるE-selectinの発現が亢進し、免疫抑制性細胞の腫瘍内流入とDesmoplasia誘導が引き起こされ、薬物療法耐性獲得に関与することが示唆された。E-selectin阻害作用を有するCimetidineを投与したところ、E-selectin発現の亢進が抑制され、Desmoplasia形成も軽減されることが確認された。以上より、口腔癌治療においてE-selectinの発現を適切に制御することは、免疫抑制環境や線維化による薬剤耐性を抑制し、薬物療法効果を増強する有効な治療戦略となり得ると考えられる。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (北平 有紀子)			
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	教授	鶴澤 成一
	副 査	教授	田中 晋
	副 査	准教授	前田 隆史
	副 査	講師	山下 元三

論文審査の結果の要旨

本研究から、口腔癌において CDDP 投与により癌微小環境血管内皮細胞の E-selectin の発現が亢進し、免疫抑制性細胞の腫瘍内流入と Desmoplasia が引き起こされ、薬物療法耐性獲得に関与することが示唆された。さらに、E-selectin 阻害作用を有する Cimetidine を投与することで CDDP による Desmoplasia が軽減されることを見出した。

以上の研究結果は、口腔癌治療において E-selectin を適切に制御することにより Desmoplasia などの癌微小環境の薬剤耐性化を抑制し、治療効果の向上に寄与する有効な治療戦略となり得る可能性を示している。

よって、本研究は博士（歯学）の学位論文として価値のあるものと認める。