



Title	IL-33 released during liver resection facilitates intrahepatic cholangiocarcinoma growth via cytokine secretion in cancer-associated fibroblasts
Author(s)	江口, 聡
Citation	大阪大学, 2026, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/105717
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 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	江口 聡
論文題名 Title	IL-33 released during liver resection facilitates intrahepatic cholangiocarcinoma growth via cytokine secretion in cancer-associated fibroblasts (肝切除により放出されるIL-33は癌関連線維芽細胞から分泌されるサイトカインを介して肝内胆管癌の発育を促進させる)
論文内容の要旨 〔目 的〕 肝内胆管癌(intrahepatic cholangiocarcinoma; iCCA)は、根治切除後も肝内再発を高頻度に認める予後不良な疾患である。我々はこれまで、肝切除後に残肝内で増加するIL-33が腫瘍発育を促進し、再発に寄与する可能性を報告した。しかし、IL-33のiCCA細胞への直接作用は確認されず、そのメカニズムは明らかになっていない。既報では、主にIL-33はCD8陽性T細胞から分泌され、IL-33受容体であるST2は線維芽細胞で高発現するとされており、腫瘍微小環境における癌関連線維芽細胞(cancer-associated fibroblast; CAF)とIL-33の相互作用が腫瘍発育に関与している可能性が考えられた。本研究では、肝切除後に残肝組織内で増加したIL-33が、CAFを介してiCCAの腫瘍促進に関連しているかどうかを検討した。 〔方法ならびに成績〕 CAFには癌部に存在するmyofibroblastic CAF(myoCAF)と、非癌部に存在し、サイトカインを放出することにより癌に促進的に作用するinflammatory CAF(iCAF)が存在する。これらのCAFの実験モデルとして、iCCAの臨床切除検体から癌部および非癌部由来の線維芽細胞を初代培養し、それぞれFibroblast in Cancer(FiC)、Fibroblast in Normal Liver(FiNL)を樹立した。さらにマウス由来胆道癌から線維芽細胞を初代培養し、マウス由来FiCを樹立した。 FiC、FiNLおよびiCCA細胞株(CCLP-1, HuCCT1)におけるST2の発現をqRT-PCRおよび免疫染色で解析すると、ST2遺伝子、ST2蛋白共に、FiCとFiNLではiCCA細胞より発現が高く、IL-33感受性はCAFにおいて高いことが示唆された。さらに、iCCA切除症例71検体を対象に免疫組織化学染色を行い、癌部のα-SMA(myoCAFマーカー)陽性細胞数と非癌部のIL-33陽性細胞数を半定量的に評価した。その結果、α-SMA陽性細胞多数群およびIL-33陽性細胞多数群では、それぞれの少数群に比べていずれも肝内再発率が高かった($p=0.027$, 0.020)。次に、IL-33がCAFを介してiCCA細胞に与える影響を検証するため、iCCA細胞を(1)単独培養群、(2)rhIL-33非刺激下で培養したFiCの培養上清添加群、(3)rhIL-33刺激下で培養したFiCの培養上清添加群の3群で比較した。増殖能・遊走能はいずれも(3)>(2)>(1)の順で高く、IL-33刺激を受けたCAFがiCCA細胞の発育促進因子を分泌している可能性が示唆された。 さらに、IL-33陽性細胞多数群および少数群の保存凍結iCCA癌組織を用いて次世代シーケンサーによるRNA-seq解析を行ったところ、cytokine-cytokine receptor interaction経路の賦活化を認めた($p_{adj}=0.005$, 第4位)。そこで、FiCおよびFiNLにIL-33刺激を行い、この経路に関連するサイトカインの変化を検討したところ、IL-6遺伝子発現のみが有意に上昇した($p<0.001$, $p=0.016$)。さらに、先のiCCA細胞培養において、rhIL-33刺激下FiC上清添加群と、これに抗IL-6抗体を加えた群を比較すると、抗IL-6抗体添加により増殖能および遊走能はいずれも有意に抑制された($p<0.001$, $p=0.015$)。 最後に、肝切除マウス(IL-33誘導マウス)および開腹マウス(非誘導マウス)に対し、マウス由来iCCA細胞単独移植群、マウス由来FiC共移植群、共移植+抗IL-6抗体投与群を作成した。IL-33誘導マウスでは単独・共移植のいずれも腫瘍体積が非誘導マウスより大きく(単独: $61\pm 21\text{mm}^3$ vs $6\pm 8\text{mm}^3$, $p=0.041$, 共移植: $1333\pm 449\text{mm}^3$ vs $183\pm 25\text{mm}^3$, $p=0.028$)、またIL-33誘導マウスでは共移植群に対する抗IL-6抗体投与により腫瘍体積は減少傾向を示した($1333\pm 449\text{mm}^3$ vs $731\pm 163\text{mm}^3$, $p=0.117$)が、非誘導マウスでは抗IL-6抗体投与による腫瘍体積の減少は認めなかった($183\pm 25\text{mm}^3$ vs $202\pm 233\text{mm}^3$, $p=0.228$)。 〔結 論〕 肝切除により残肝組織内で放出されるIL-33は、線維芽細胞によるIL-6分泌を増加させ、潜在的に遺残するiCCA細胞の増殖を促進することにより再発に寄与する可能性が示唆された。IL-33/IL-6経路はiCCA再発抑制の新たな治療標的となり得る可能性が示唆された。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 江口 聡			
論文審査担当者		(職)	氏 名
	主 査	大阪大学教授	江口 英利
	副 査	大阪大学教授	井上 大地
	副 査	大阪大学教授	石川 直子

論文審査の結果の要旨

肝内胆管癌(iCCA)は肝切除後、多くの症例で再発する。先行研究にて肝切除で誘発される残肝内IL-33が再発促進と関与する可能性を報告したが、IL-33にiCCA細胞に対する直接作用はなかった。本研究では間接作用因子として、iCCAの微小環境内にある癌関連線維芽細胞(CAF)に着目した。

肝切除を行った臨床検体を用い、CAFが多く含まれる症例では肝内再発率が高いことが示された。細胞実験では、CAFにrhIL-33を添加して培養すると、iCCA細胞の増殖能および遊走能を亢進させる物質(IL-6)を分泌していた。動物実験では、皮下移植したiCCA細胞は、マウスの肝切除を行うこと、CAF共移植の行うことで、それぞれ有意に増大した。

以上から、肝切除によって残肝内のIL-33が誘導され、IL-33/CAF/IL-6経路を介して、iCCAの再発に関与している可能性が示唆された。

本研究の結果、肝切除前後の管理を行うことでiCCAの再発を予防できる可能性が示された。本研究はBritish Journal of Cancer誌に掲載されており、学位の授与に値するものとする。