OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Tumor Endothelial Cells Induce M2 Macrophage Polarization via IL-4, Enhancing Tumor Growth in Hepatocellular Carcinoma
Author(s)	的羽, 大二朗
Citation	大阪大学, 2026, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/105719
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	的羽　大二朗
論文題名 Title	Tumor Endothelial Cells Induce M2 Macrophage Polarization via IL-4, Enhancing Tumor Growth in Hepatocellular Carcinoma (肝細胞癌における腫瘍血管内皮細胞は、IL-4を介してM2マクロファージへの分極化を誘導し、腫瘍増殖を促進する)

論文内容の要旨

〔目　的(Objective)〕

肝細胞癌（Hepatocellular carcinoma：HCC）は血流豊富な腫瘍であり、実臨床において血管新生阻害剤と免疫チェックポイント阻害剤を併用することで、強力な抗腫瘍効果を発揮することが示されている。腫瘍血管内皮細胞（TEC: tumor endothelial cell）は、正常血管内皮細胞（NEC: normal endothelial cell）と異なる機能を有し、腫瘍進展や免疫抑制に関与すると考えられている。一方で、腫瘍微小環境における腫瘍関連マクロファージ（TAM: tumor-associated macrophage）は多くの癌種で患者予後との関連が報告されており、特にM2マクロファージは抗腫瘍免疫を抑制することで腫瘍促進的な微小環境を形成する。しかし、TECとTAMにおける相互作用、およびM2マクロファージへの分極化に対するTECの作用機序は十分に解明されていない。本研究の目的は、HCCにおけるTECとTAMの相互作用機序、およびM2マクロファージへの分極化に対するTECの作用機序の解明を行うことである。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

マウス肝癌細胞株（BNL-T）を用いてマウス皮下腫瘍モデルを作成し、CD31マイクロビーズを用いた磁気細胞分離法で腫瘍からTECを、肝臓からNECを分離・培養した。マウス骨髄より骨髄細胞を採取し、M-CSFを用いて7日間培養することでM0マクロファージを作成した。TEC由来培養上清（Conditioned Medium from TEC:TEC-CM）またはNEC由来培養上清(NEC-CM)をM0マクロファージに添加し、一定時間培養後にqRT-PCR、フローサイトメトリーにより分極化を解析した。TEC-CM群はNEC-CM群と比較して、有意にM2マクロファージ特異的遺伝子群(*Il-10, Arginase-1, Tgf-beta1*)の発現上昇を認め、M2マクロファージの割合が増加していた(TEC-CM:44.6%,NEC-CM:23.5%,$p<0.05$)。次に、BNL-TとTECの混合による腫瘍増殖への影響を検討するため、BNL-T単独群、BNL-T＋NEC群、BNL-T＋TEC群の3群にて皮下腫瘍モデルを作製した。BNL-T＋TEC群において、腫瘍重量はBNL-T単独群及びBNL-T+NEC群に対して有意に増大を認めた(BNL-T単独群:1053±155mg,BNL-T+NEC群:1485±102mg,BNL-T+TEC群:2083±229mg,$p<0.01$)。また腫瘍内M2マクロファージの比率は、BNL-T＋TEC群において有意に増加を認めた(20.9±3.1%,23.2±5.1%,43.1±2.5%,$p<0.01$)。次にTECおよびNECにおけるM2マクロファージへの分極化を促進するサイトカイン(IL-4,IL-10,IL-13,TGF-β1)の発現をqRT-PCRおよびELISAにて解析した結果、TECにおいて*Il-4*発現が有意に上昇し、培養上清中のIL-4濃度も有意に増加を認めた。siRNAにてTECの*Il-4*発現を抑制し、M0マクロファージに*Il-4*発現を抑制したTEC由来の培養上清を添加させた結果、M2マクロファージの割合はControlと比較して有意に低下を認めた(14.0% vs 37.9%,$p<0.01$)。最後にHCCに対して肝切除を施行した73例の切除検体を用いてCD31とCD163の二重蛍光免疫染色を行い、臨床病理学的因子と患者予後に関して検討を行った。切除検体におけるCD31数とCD163数には正の相関を認め($r=0.61, p<0.001$)、CD31およびCD163が共に高値の群(CD163 High and CD31 High：HH群)とその他の群(Others群)の2群で比較を行った。2群間において、無再発生存(Disease-free survival:DFS)、および全生存(Overall survival:OS)に関して、HH群はothers群と比較して有意に予後不良であった(5年DFS 15.7% vs 49.7%、$p<0.001$、5年OS 30.8% vs 80.9%、$p<0.0001$)。単変量・多変量解析では、CD163 High and CD31 Highは独立予後不良因子であった(DFS：HR=3.358,$p<0.001$, OS：HR=4.880,$p<0.0001$)。

〔総　括(Conclusion)〕

HCCにおけるTECは、IL-4分泌を介してM2マクロファージへの分極化を誘導し、腫瘍増殖を促進することにより、患者予後に影響を及ぼしてい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）的羽　大二朗

論文審査担当者	（職）	氏　名	
主　査	大阪大学教授	江口 英利	署　名
副　査	大阪大学教授	垂井 清一	署　名
副　査	大阪大学教授	小玉 美智子	署　名

論文審査の結果の要旨

癌微小環境において、腫瘍関連マクロファージ（TAM: Tumor associated macrophage）、特にM2マクロファージは抗腫瘍免疫機能を抑制するとされている。また、腫瘍における血管内皮細胞（TEC: Tumor endothelial cell）は、腫瘍浸潤Ｔリンパ球の疲弊化を誘導するとされているが、TAMに対する作用メカニズムは不明である。本研究では、肝細胞癌におけるTECがTAMへ及ぼす作用機序を解明し、新規治療標的の同定を行うことを目的とした。マウス肝癌細胞株BNLを用いて皮下腫瘍モデルを作成し、腫瘍からTECを、肝臓から正常血管内皮細胞を分離・培養した。TECの培養上清によりM2マクロファージへの分極化を認め、BNLとTECの混合投与により作成した腫瘍では、M2マクロファージの比率が増加した。TECにおけるIL-4の発現は正常血管内皮細胞と比較して上昇し、培養上清中のIL-4濃度も上昇していた。IL-4の発現抑制により、M2マクロファージへの分極化は抑制された。肝細胞癌切除例において、TECおよびM2マクロファージを高頻度に認める症例群において、全生存期間および無再発生存期間は不良であった。以上より、本研究は肝細胞癌における免疫抑制性腫瘍微小環境形成の新たな分子機構を示した点で意義深く、学位授与に値すると考える。