

Title	Lysophosphatidic Acid Receptor 4 Activation Augments Drug Delivery in Tumors by Tightening Endothelial Cell-Cell Contact
Author(s)	永野, 大輔
Citation	大阪大学, 2018, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/69278">https://hdl.handle.net/11094/69278</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 永野 大輔		
論文審査担当者	(職)	氏 名
	主 査	大阪大学教授 岸島 晴彦
	副 査	大阪大学教授 熊 郷 淳
	副 査	大阪大学教授 五井 英一
<p><b>論文審査の結果の要旨</b></p> <p>本研究は、腫瘍内の血管構築を促進させ、抗がん剤到達の改善をもたらすリゾフォスファチジン酸(LPA)の新たな機能を探索し、さらにその現象に対するメカニズムを解析したものである。マウス皮下に癌細胞を移植し、LPAを投与することで、腫瘍血管のネットワークの構築が促進された。血管内皮細胞の増殖に影響しているのではなく、個々の血管内皮細胞が伸長していることが確認された。腫瘍内血流の改善、腫瘍内酸素化の改善、薬剤到達改善が確認され、皮下腫瘍マウスにLPAと抗がん剤を併用投与したところ、抗がん剤単剤と比べて強い腫瘍抑制効果が確認された。LPA受容体であるLPA1-LPA6の受容体発現パターンを解析し、さらにLPA4KOマウス、LPA6KOマウスを用いて皮下腫瘍実験を行うことで、LPA4が腫瘍血管構築に関与していることを発見した。血管内皮細胞株であるMS-1を用いて、血管内皮細胞に与えるLPAの効果を検証した。LPAの作用は血管内皮細胞の細胞骨格に作用し、血管内皮細胞感接着に関わるVE-cadherinの安定化をもたらしていることを確認した。以上、本論文は腫瘍内血管の機能改善をもたらす物質としてLPAに着目し、腫瘍血管のネットワーク改善と抗がん剤到達の改善をもたらすことを明らかにした。現在臨床で用いられている抗がん剤治療の効果を増強させることが期待され、がん治療研究に貢献したと考えられることから、学位の授与に値すると考えられる。</p>		

論 文 内 容 の 要 旨  
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	永野 大輔
論文題名 Title	Lysophosphatidic Acid Receptor 4 Activation Augments Drug Delivery in Tumors by Tightening Endothelial Cell-Cell Contact (LPA4刺激シグナルは血管内皮間接着を強固にして腫瘍内薬剤到達を改善させる)
論文内容の要旨	
〔目 的(Purpose)〕 腫瘍血管ネットワーク形成を促進させ、抗がん剤到達を改善させる新規脂質メディエーターの探索	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 LLC皮下腫瘍モデルマウスを作成し、リゾフォスファチジン酸 (LPA) を投与した。腫瘍切片を抗CD31抗体で染色し、腫瘍血管形態を観察したところ、腫瘍内部にまで血管が伸長していることが確認された。血管内皮細胞核を特異的に千直する抗ERG抗体を用いることで、LPAは血管内皮細胞の増殖に働いているのではなく、個々の内皮細胞の伸長に働いていることが分かった。続いて血管機能を解析した。蛍光Lectinを投与して血流改善を確認した。Hypoxiprobeを用いて腫瘍内の低酸素が改善していることを確認した。また、Doxorubicinおよび蛍光Dextranを投与して薬剤到達の改善を確認した。抗がん剤 (5-FU) とLPAを併用し、腫瘍サイズを経時的に観察したところ、抗がん剤単剤と比べて併用群で有意に腫瘍サイズの縮小を認めた。LPAの受容体はLPA1からLPA6まで現在のところ6種類の受容体が知られている。腫瘍血管形成に関わる受容体を同定するため、LLC皮下腫瘍内の血管内皮細胞をFACSでソーティングしてreal-time PCRを行ったところ、血管内皮細胞ではLPA4とLPA6が発現していることが確認された。そこで、LPA4KO mouseとLPA6KO mouseにLLC皮下腫瘍を形成させ、LPAの効果を観察したところ、LPA4KO mouseではLPAの効果が見られなかった。また、LPA4 agonistであるVPC31144 (9) を投与してもLPAと同様の効果があることから、LPAによる腫瘍血管形成促進作用はLPA4によるものと考えられた。LPAを投与した腫瘍血管では血管内皮間接着因子であるVE-cadherinが細胞膜に局在していることが観察されたため、LPAの作用はVE-cadherinの局在変化によるものと推測された。そこで、血管内皮細胞cell lineであるMS-1をシート状に培養し、LPA刺激を行った。LPAによる刺激によってVE-cadherinの膜局在の安定化とともに、直下にあるF-actinの形成促進が観察されたことから、LPAはF-actinの形成を促進させることで、間接的にVE-cadherinの膜局在を制御していると考えられた。	
〔総 括(Conclusion)〕 LPAおよびLPA4シグナルは腫瘍血管内皮細胞のF-actinの形成を促進させ、内皮細胞間接着の強化と血管ネットワークの形成をもたらす、腫瘍内への抗がん剤デリバリーを改善させる。	