OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Origin of cancer-associated fibroblasts and tumor-associated macrophages in humans after sex-mismatched bone marrow transplantation
Author(s)	倉重, 真沙子
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/72483
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

[Format-H07]

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名） 倉重 真沙子

論文審査担当者	（職）	氏名
主　査	大阪大学教授	古井 英一
副　査	大阪大学教授	野々村 祝夫
副　査	大阪大学教授	倉田 真一

論文審査の結果の要旨

癌関連線維芽細胞(CAF)や腫瘍関連マクロファージ(TAM)、正常組織の組織在住マクロファージに骨髄由来細胞がどの程度存在するかについては、ヒトの組織でほとんど調べられていない。本研究では、異性間骨髄移植後に発生した二次性腫瘍（乳癌、肝細胞癌、口腔扁平上皮癌）の病理組織標本を用い、蛍光免疫染色と性染色体fluorescence in situ hybridizationを組み合わせたimmunoFISH法および三重蛍光免疫染色で解析することにより、ヒトにおけるCAF、TAMおよび非腫瘍組織における組織在住マクロファージの起源を調べた。結果、形態的にはCAFの一部と認識されていたα－smooth muscle actin陰性紡錘形細胞の大部分が骨髄由来細胞であり、TAMや非腫瘍組織の組織在住マクロファージがほぼ全て骨髄由来であることを示された。以上の検討は、多様な構成細胞からなり特にヒトの組織では不明な点が多いがん間質についての重要な知見を与えるものであり、学位に値すると考える。

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　　名 Name	倉重　真沙子
論文題名 Title	Origin of cancer-associated fibroblasts and tumor-associated macrophages in humans after sex-mismatched bone marrow transplantation （異性間骨髄移植後の病理組織標本で調べたヒトの腫瘍における癌関連線維芽細胞と腫瘍関連マクロファージの起源）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

癌関連線維芽細胞（cancer-associated fibroblasts; CAF）は腫瘍微小環境の主な構成要素であり、CAFには固有組織由来の線維芽細胞のみでなく骨髄由来細胞が含まれることが報告されている。また、もうひとつの主な構成要素である腫瘍関連マクロファージ(Tumor-associated macrophage; TAM)は、臓器固有の組織在住マクロファージとは異なり、ほぼ骨髄から動員された炎症性単球に由来することが報告されている。組織在住マクロファージについては、fate mapping法により、肝臓等の多くの臓器において、少なくとも一部は卵黄嚢由来の胎生マクロファージが自己新生することにより生涯維持されると報告されている。以上はマウスを用いた実験でえられた知見であるが、ヒトの組織ではこれらの細胞の起源についてほとんど調べられていない。本研究では、異性間骨髄移植後のヒト病理組織標本を用いて、CAFや腫瘍関連マクロファージ、組織在住マクロファージの起源を明らかにすることを目的とする。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

異性間骨髄移植後に発症した乳癌、肝細胞癌、口腔扁平上皮癌の病理組織標本を用い、蛍光免疫染色と性染色体fluorescence in situ hybridization（FISH）を組み合わせたimmunoFISH法でキメリズム解析を行った。癌間質に存在する紡錘形核をもつ細胞（以下、紡錘形細胞と省略）をCAFの候補として、α smooth muscle actin(SMA)陽性細胞と陰性細胞とに分け解析した。結果、腫瘍部においては、αSMA陰性紡錘形細胞の74.8-89.7%がドナー由来であるのに対し、αSMA陽性紡錘形細胞は1.2-4.6%であった。非腫瘍部では、αSMA陽性紡錘形細胞、αSMA陰性紡錘形細胞ともドナー由来細胞はほぼ認められなかった。ドナー由来紡錘形細胞が細胞融合により生じた可能性を検討するため、ドナー由来紡錘形細胞の性染色体シグナル数をカウントした結果、αSMA陽性細胞、陰性細胞とも性染色体シグナルを3個以上有する細胞は1%以下であった。

次に、ドナー由来の紡錘形細胞が造血細胞に由来するか骨髄間質細胞に由来するかを検討した。造血細胞由来であるならば、形態的にはマクロファージや樹状細胞が候補となるため、これらの共通マーカーとしてCD68とHuman Leukocyte Antigen（HLA)-DRを用いた。骨髄間質細胞のマーカーとしてはPlatelet derived growth factor receptorβ（PDGFRβ）を用いた。αSMA、HLA-DR、PDGFRβの三重蛍光免疫染色では、αSMA陽性紡錘形細胞はほぼPDGFRβ陽性細胞と一致しており、HLA-DR陽性細胞とは排他的な関係にあり、αSMA陽性紡錘形細胞は骨髄間質細胞に由来する可能性が示唆された。しかし、ドナー由来の骨髄間質細胞が生着しているかを検討するため、移植後3年時の骨髄組織でPDGFRβ陽性間質細胞のキメリズム解析を行ったところ、ドナー由来の細胞はほぼ認められなかった。αSMA陰性紡錘形細胞については、αSMA、HLA-DR, CD68で三重蛍光免疫染色を行ったところ、αSMA陰性紡錘形細胞の73-88%がHLA-DR陽性で、HLA-DR陽性紡錘形細胞の72-84%がCD68陽性であった。また、キメリズム解析では、HLA-DR陽性紡錘形細胞はほぼドナー由来であった。

腫瘍関連マクロファージと非腫瘍組織における組織在住マクロファージの起源についても、上記と同じ3症例において、CD163をマーカーとしたキメリズム解析で調べた。いずれの症例においても、CD163陽性マクロファージは腫瘍部および非腫瘍部でほぼ全てドナー由来であった。

〔総　括(Conclusion)〕

①癌間質に存在する、形態的には癌関連線維芽細胞と認識していたαSMA陰性紡錘形細胞の多くが、マクロファーや樹状細胞を含むHLA-DR陽性骨髄由来細胞であり、細胞融合により生じた可能性は極めて低いと考えられた。②腫瘍関連マクロファージは、マウスでの報告と同様に、骨髄細胞に由来した。③移植後3年以上経過したヒトの組織（乳腺、肝、口腔粘膜）では、組織マクロファージは骨髄由来細胞によりほぼ完全に置き替わっていた。