The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Anti-metastatic effect of methylprednisolone targeting vascular endothelial cells under surgical stress
Author(s)	Hagi, Takaomi
Citation	大阪大学, 2022, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/89513
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	萩　隆臣
論文題名 Title	Anti-metastatic effect of methylprednisolone targeting vascular endothelial cells under surgical stress (生体侵襲時のmethylprednisolone投与による血管内皮細胞を標的とした転移抑制効果の検討)

論文内容の要旨

〔目　的 (Purpose)〕

悪性腫瘍手術における術後合併症や術後炎症の程度は予後を規定する因子であることが知られている。我々は、胃癌手術における後ろ向き研究で、術後合併症症例のみならず、合併症にかかわらず術後CRP（最高値）が高い症例も予後不良であり、特に再発形式として血行性転移が有意に高いということを報告した。炎症が癌転移を促進するメカニズムは十分に解明されていないが、基礎的検討では炎症により血管内皮細胞におけるE-selectinなどの接着因子の発現上昇の関与が想定されている。

我々はこれまでに生体侵襲モデルマウスに対する抗炎症薬 (methylprednisolone: MP)の投与が腫瘍増殖の抑制効果を有することを示してきた。一方で、周術期のMPの使用が血行性転移にもたらす効果については未だ不明な点が多い。

本研究では、手術侵襲を想定した生体侵襲時のMP投与による血行性転移の抑制効果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)〕

Lipopolysaccharide (LPS)による炎症惹起を生体侵襲モデルとして使用した。血管内皮細胞であるHUVEC (human umbilical vein endothelial cells: ヒト臍帯静脈内皮細胞)およびHHSEC (human hepatic sinusoidal endothelial cells: ヒト肝類洞内皮細胞)に対するLPSおよびMP投与による接着因子の発現および細胞接着能の変化を*in vitro*で比較検討した。接着因子の発現評価として、ウェスタンブロット法(WB法)およびquantitative real-time PCR (qRT-PCR)を用いて血管内皮細胞における細胞接着に関わる分子の発現を比較した。また、細胞接着能の評価として、LPSおよびMP投与後の血管内皮細胞に対し、ヒト胃癌細胞株(AGS, NUGC3)を共培養することで血管内皮細胞表面に接着した腫瘍細胞の個数変化を比較した(adhesion assay)。その結果、LPS投与により血管内皮細胞におけるE-selectinの発現上昇を認め、これらはMP投与により抑制された。また、LPS投与により血管内皮細胞に接着する腫瘍細胞数は増加し、MP投与により増加の抑制を認め、血管内皮細胞における腫瘍細胞の接着にはE-selectinの発現が関与しており、炎症惹起およびMP投与がこれらを制御している可能性が示唆された。

次に、炎症惹起に対するMP投与の血行性転移における有用性について*in vivo*で検討した。腫瘍細胞移植前のLPSおよびMP投与による、経時的な肝転移個数の変化について肝転移モデルマウスを用いて比較した。また、生体における接着因子発現の評価として、LPSおよびMP投与6時間後の肝内門脈および血清におけるE-selectinの発現をそれぞれWB法、qRT-PCRおよびenzyme-linked immunosorbent assay法を用いて比較した。その結果、LPS投与は肝転移個数を有意に増加させ、MP投与はこれらを有意に抑制することが示された。また、移植24時間後の肝組織に認められる腫瘍細胞個数についても同様の結果を認めた。肝内門脈におけるE-selectin発現はLPS投与によって上昇し、MP投与により上昇は抑制された。同様に、血清E-selectin値についてもLPS投与によって上昇し，MP投与により抑制を認めた。

さらに、患者血液検体を用いた検討として、胃癌切除術直前のMP投与群および非投与群における術前と術後1日目の血清E-selectin値の変化を比較した。その結果、MP投与群は非投与群と比較して有意に血清E-selectin値の低下を認めた。

〔総　括 (Conclusion)〕

生体侵襲が肝の血管内皮細胞におけるE-selectinの発現上昇を来たし、腫瘍細胞の接着を促進させている可能性が示唆された。生体侵襲時におけるMPの投与は、血管内皮細胞でのE-selectinの発現上昇を抑制することで腫瘍細胞の接着を抑制し、転移の抑制につながっ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）　萩　隆臣

		（職）	氏　名
論文審査担当者	主　査	大阪大学教授	土岐祐一郎
	副　査	大阪大学特任教授	石井秀始
	副　査	大阪大学教授	新谷康

論文審査の結果の要旨

悪性腫瘍手術による高度侵襲は予後不良の要因となり、特に血行性転移の頻度が高くなることが知られている。本研究では、これら手術侵襲による炎症に対しmethylprednisolone (MP)を用いて抑制することで、血行性転移を抑制する効果があるかどうかについて検討されている。手術侵襲を模したlipopolysaccharide投与による炎症惹起により、肝転移モデルマウスにおいて肝転移個数の増加を認め、MP投与による炎症抑制効果によってこれらの増加が抑制されることが示されている。またこれら機序として、血管内皮細胞におけるE-selectinの発現変化が関与していることが、in vitroおよびin vivoの研究によって示されてる。本研究は、悪性腫瘍手術後の血行性再発を抑制することを目的とした治療法の確立において重要な役割を担う研究であると考えられ、学位に値するものと認める。