



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	酸化LDL受容体LOX-1シグナルを介した腫瘍血管内皮細胞による好中球遊走促進とがん転移誘導 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	積田, 卓也
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第15023号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/85998
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Takuya_Tsumita_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（歯学） 氏 名 積 田 卓 也

主査 教授 樋 田 京 子
審査担当者 副査 教授 北 川 善 政
副査 教授 飯 村 忠 浩

学 位 論 文 題 名

酸化 LDL 受容体 LOX-1 シグナルを介した
腫瘍血管内皮細胞による好中球遊走促進とがん転移誘導

審査は主査と北川副査出席の下WEB形式の公聴会として行われた。なお、飯村副査は後日個別審査にて審査を行った。いずれの審査においてもはじめに申請者より提出論文の概要の説明が行われた。その内容を以下に示す。

先進国の2大死因である「がん」と「循環器疾患」が相互に関連していることが疫学調査を中心に報告されており、その共通分子病態の解明は臨床的にも重要である。「腫瘍循環器学」は古典的にはがん治療に伴う心血管イベント発生に関する病態理解のための学際領域であったが、近年その定義を拡大し、両疾患における分子レベルでの共通性の解明を目指したものに発展しつつある。

両疾患の血管病変部で共通して豊富に存在すると報告されている分子のひとつにBiglycanがある。Biglycanは低密度リポタンパク質 (Low density lipoprotein: LDL) に対する強い結合能を有するプロテオグリカンの1種であり、アテローム性動脈硬化巣に豊富に存在することが報告されている。また我々は近年、高転移性腫瘍組織の血管にBiglycanが高発現していることを示している。Biglycan発現亢進を起点にした血管壁へのLDLの蓄積はアテローム性動脈硬化症の発症過程の最重要事項のひとつだが、その一方でがん悪性化との関連についての報告はほとんどない。本研究では、悪性腫瘍組織内におけるLDL沈着の可能性を着想し、転移促進性のがん微小環境形成過程における腫瘍組織へのLDL蓄積の重要性を明らかにすることを目的とした。

がんの転移能の違いを評価するためのモデルとして転移能の異なるヒト悪性黒色腫皮下移植マウスモデルを使用した。免疫組織学的解析を実施したところ、Biglycanが発現亢進している高転移性の腫瘍組織にはLDLが蓄積していることがわかった。加えて、高転移性腫瘍移植マウスでは血中の酸化LDLが高値を示していたことから、高転移性腫瘍組織でLDLの酸化が亢進していると考えられた。興味深いことに、酸化LDLの受容体のひとつであり、循環器疾患発症の重要分子として知られているLectin-like oxidized LDL Receptor-1 (LOX-1) が高転移性の腫瘍血管内皮細胞で高発現していることが新たに見出された。このことは、高転移性腫瘍血管内皮細胞がLOX-1を介して周囲に豊富に存在する酸化LDLを利用し、がん転移を促進している可能性を示唆していると考えられた。

酸化LDL形成において好中球の重要性が知られている。そこでCitH3とMPOに対する抗体を用いた蛍光2重免疫染色によって、高転移性腫瘍組織中の好中球の蓄積と活性化の程度を観察したところ、高転移性腫瘍組織において顕著な好中球浸潤と活性化が認められた。さらに、好中球の遊走と活性化におけるLOX-1の関与を評価したところ、LOX-1の発現は血管内皮細胞からのCCL2分泌を介して好中球の血管内皮細胞への遊走を促進することが明らかとなった。血管内皮細胞からのCCL2の分泌は酸化LDL添加によって増強された。さらに、血管内皮細胞におけるLOX-1の発現はがん細胞に対

しても遊走促進的に機能し、その効果はCCL2の受容体であるCCR2阻害処理により減弱されることが示された。

最後に、腫瘍血管内皮細胞または腫瘍間質におけるLOX-1発現が実際にがんの転移を促進するかどうかを検証するためにin vivoでのLOX-1阻害実験を行った。1つ目の方法として、shLOX-1安定発現腫瘍血管内皮細胞とがん細胞との共移植実験により肺転移の程度を評価した。すると、コントロールの腫瘍血管内皮細胞の共移植マウスに比べ、LOX-1ノックダウン血管内皮細胞の共移植マウスにおいて肺転移が減少した。また、2つ目の方法としてshLOX-1発現アデノ随伴ウイルスの腫瘍内投与により直接的に腫瘍間質のLOX-1発現を抑制したところ、同様にLOX-1の抑制が肺転移を減少させる傾向があることが示された。

以上の結果から、腫瘍血管内皮細胞における酸化LDL/LOX-1経路が好中球の誘引を介して高転移性の腫瘍微小環境形成につながっている可能性が示唆された。本研究の重要な発見としては、心血管イベントの重要なリスク因子である酸化LDL/LOX-1経路ががんの悪性化にも寄与しうること示した点にある。担癌状態で生じる酸化LDL/LOX-1シグナル活性化と腫瘍随伴血栓症などの腫瘍関連心血管イベントとの直接的な関連については、今後さらなる実験的検討が必要ではある。しかし、酸化LDL/LOX-1シグナルをターゲットにした治療戦略は、がん治療と同時に循環器疾患リスクを軽減せうる有望な治療戦略となる可能性がある。今後の詳細な解析と臨床検体を用いたトランスレーショナル研究の推進が望まれる。

審査は審査担当者が提出論文の内容および関連した学問分野について口頭により試問する形式で行われた。以下にその項目を示す。

- 1) 本研究で Biglycan に着目した経緯について
- 2) 抗がん剤治療に伴う血栓症や心血管イベントといったこれまでのOnco-Cardiologyの範疇を越えた「がん」と「循環器疾患」の関連についての国内外の研究の動向
- 3) LDLとBiglycanの静電的な相互作用示した実験内容について
- 4) 動脈硬化の既往と発がんリスクやがん悪性化リスクについて
- 5) 酸化LDLの重要性について
- 6) 高転移性腫瘍組織で CD36 が低下していることについての考察
- 7) GTEx-TCGA databaseを用いた解析方法の詳細について
- 8) 化学発光シグナルによる肺転移の評価と病理組織学的な転移評価の相関性について
- 9) 血中の酸化LDLと可溶性LOX-1の両者を測定する意義について
- 10) 腫瘍関連好中球とNETsとの関連について
- 11) 原発腫瘍由来の酸化LDLが遠隔転移先に作用する可能性について
- 12) LOX-1の発現制御機構について
- 13) 酸化LDLを標的とするがん治療方法のポテンシャルについて
- 14) 酸化LDL/LOX-1経路による好中球遊走促進と、その腫瘍微小環境形成における病態機能について
- 15) 動脈と腫瘍血管における、酸化LDL/LOX-1経路活性化の機能的な相違について

本研究の結果は、がん悪性化に関わる腫瘍微小環境形成機構に関する重要かつ斬新な基礎科学的情報を提供しており、学術的にも高く評価されると考えられた。加えて、上記の質疑応答から、申請者は本研究内容を中心とした専門分野はもとより、関連分野について十分な理解と知識を有していることが確認された。

以上のことから、審査担当者全員は学位申請者が博士（歯学）の学位を授与するに値するものと認めた。