

京都大学	博士 (医学)	氏名	西川 元
論文題目	Bone marrow-derived mesenchymal stem cells promote colorectal cancer progression via CCR5 (骨髄由来間葉系幹細胞はケモカイン受容体 CCR5 を介して大腸癌の進展を促進する)		
(論文内容の要旨)			
<p>癌微小環境における癌細胞と周囲の間質との相互作用が癌の浸潤・転移に影響することが近年明らかになってきた。間質細胞の一つである間葉系幹細胞 (Mesenchymal stem cells: MSCs) は多分化能、自己複製能を持つ細胞群で、骨髄などから損傷部位へ遊走し組織の修復や免疫制御などに関与することが知られている。MSCs は癌微小環境へも遊走し、成長因子、サイトカイン、ケモカインを分泌して腫瘍進展に寄与することが近年報告されている。本研究では MSCs と大腸癌との間に働く相互作用を検討した。</p> <p>ヒト骨髄由来 MSCs の培養上清を用いてケモカイン・アレイを行ったところ、ケモカイン受容体 CCR5 のリガンドである CCL3, CCL4, CCL5 が MSCs より多量に分泌されていることが明らかとなった。一方、CCR5 はフローサイトメトリーにより大腸癌細胞株の細胞質内に高発現していることが分かった。免疫不全マウスに MSCs と大腸癌細胞株を共接種したところ、検証した3細胞株 (SW480, HT29, HCT116) すべてで大腸癌細胞株単独を接種した場合に比べ腫瘍増殖が有意に促進された。そこで HCT116 細胞に CCR5 を強制発現させた株 (HCT116-CCR5) を作成し、CCR5 を介したシグナルについて <i>in vitro</i> 実験で検討した。CCR5 リガンド (CCL5) 刺激で HCT116、HCT116-CCR5 いずれの細胞株でも細胞増殖の亢進を認めるものの CCR5 強制発現による影響は認められなかった。一方、Transwell migration assay においては HCT116-CCR5 細胞でのみ細胞遊走能の亢進が認められた。</p> <p>次に、MSCs と HCT116-CCR5 株とを免疫不全マウスに共接種したところ、MSCs による大腸癌細胞の腫瘍増殖効果が CCR5 を強制発現させることでさらに促進されることが明らかとなった。CCR5 阻害剤 (Maraviroc) はすでに HIV 治療薬として臨床応用され、また CCR5 阻害は様々な癌種に対する新たな治療ターゲットとして近年注目されており、大腸癌においても phase I study で臨床応用が最近報告された。そこで MSCs と HCT116-CCR5 株とを共接種させて形成されたマウス皮下腫瘍に対して Maraviroc を投与したところ、CCR5 強制発現により得られた腫瘍増殖促進効果が著しく抑制され、抗腫瘍効果が確認された。</p> <p>京都大学附属病院で切除された 89 例の大腸癌原発巣での CCR5 発現を免疫組織染色にて評価した結果、CCR5 高発現群 (20 例) は低発現群 (69 例) に比べ全生存率 (OS)、疾患特異的生存率 (CSS)、無病生存率 (RFS) すべてにおいて予後が悪い傾向が認められた。病期ごとの解析では、Stage I/II 症例では予後の差は認められず、Stage III/IV 症例では高発現群で有意に予後不良であった。CCL3, CCL4, CCL5 の血清値を ELISA にて測定して予後を検討したところ、CCL3, CCL4 では高値群は低値群に比べ有意に OS, CSS で予後不良であった。</p> <p>以上の結果より、CCR5 発現は病期の進んだ大腸癌症例において予後不良因子であり、またそのリガンドである CCL3, CCL4 の血清高値は予後不良のバイオマーカーになりえることが示唆された。大腸癌において CCR5 が新たな治療ターゲットとなり得る可能性が示唆された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

癌微小環境中の間葉系幹細胞(Mesenchymal stem cells: MSCs)は、成長因子、サイトカイン、ケモカインを分泌し腫瘍進展に寄与することが近年報告されている。本研究では MSCs と大腸癌細胞との間に働く相互作用が大腸癌における新たな治療ターゲットになりえるかを検討した。MSCs の培養上清のケモカイン・アレイの結果から、ケモカイン受容体 CCR5 を介したシグナルに着目した。CCR5 を強制発現させた大腸癌細胞株を用いた *in vitro* 実験では CCR5 を介したシグナルが細胞遊走能を亢進させた。MSCs と大腸癌細胞株を共移植してマウス皮下腫瘍を形成させる *in vivo* 実験では、MSCs による腫瘍増殖効果が認められたが、CCR5 強制発現株はコントロール株に比べ腫瘍増殖効果をさらに促進することが明らかとなった。さらに、CCR5 阻害剤を投与すると CCR5 強制発現株により得られた腫瘍増殖効果が有意に抑制された。大腸癌原発巣の切除標本 (n=89) で CCR5 の発現を免疫組織学的に評価したところ、Stage III / IV 症例では CCR5 高発現群が低発現群に比べ有意に予後不良であった。また血清中の CCR5 リガンド濃度 (CCL3, CCL4, CCL5) を測定すると、CCL3 および CCL4 の高値群では有意に予後不良であった。以上より、MSCs は CCR5 を介したシグナルを介して大腸癌の進展を促進し、そのシグナル経路は新たな治療ターゲットとなり得ることが示唆された。

以上の研究は癌微小環境中の間質細胞と大腸癌のインタラクションの解明に貢献し大腸癌の癌微小環境をターゲットとした新たな治療に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和 1 年 8 月 1 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。