

京都大学	博士（医学）	氏名	平田 渉
論文題目	Downregulation of osteoprotegerin in colorectal cancer cells promotes liver metastasis via activating tumor-associated macrophage (大腸癌細胞における osteoprotegerin の発現低下は、腫瘍関連マクロファージの活性化を介して肝転移を促進する)		
(論文内容の要旨)			
<p>【背景】 大腸癌は高頻度に肝臓へ転移し、その予後は悪い。したがって、転移性大腸癌、特に肝転移に対する治療戦略を練ることは非常に重要である。腫瘍微小環境は、腫瘍細胞と、免疫細胞などの周囲の正常な細胞との間に複雑なネットワークを構成している。腫瘍微小環境が腫瘍の進行と化学療法に対する抵抗性に寄与していることはよく知られており、腫瘍微小環境を新たな癌治療の標的にすることへの関心が高まっている。Osteoprotegerin (OPG) は、receptor activator of nuclear factor-kappa B (RANK) ligand (RANKL) に対するデコイ受容体として機能する分泌型サイトカイン受容体である。OPG-RANKL-RANK 軸は、固形腫瘍の骨転移において重要な役割を果たしており、抗 RANKL 抗体であるデノスマブは骨関連イベントを軽減する骨転移の標準治療法である。骨以外にも、RANKL-RANK シグナルは腫瘍の進行過程の様々な段階に関与することが示されており、腫瘍関連マクロファージ (TAM) は腫瘍微小環境における RANKL-RANK シグナルにより活性化される主要なプレイヤーの1つである。RANKL に対するおとり受容体として機能する OPG は、RANKL を中和することにより抗腫瘍効果を発揮する可能性がある。しかし、大腸癌の腫瘍微小環境における OPG-RANKL-RANK 軸の役割と大腸癌細胞における OPG 発現の臨床的意義についてはまだ十分に研究されていない。</p> <p>【目的、方法】 大腸癌の腫瘍微小環境、特に大腸癌の肝転移における OPG の分子機構を解明し、大腸癌肝転移に対する新たな治療戦略の可能性を探ることを目的とした。大腸癌細胞株、THP1 細胞株、臨床切除標本を用いて OPG 発現の臨床的意義と TAM へ与える影響を評価した。さらに、大腸癌肝転移マウスモデルを作成し、腫瘍微小環境における OPG の役割を調べた。</p> <p>【結果】 まず TCGA 公開データベースを用いた <i>in silico</i> 解析では、OPG 発現のダウンレギュレーションが全生存期間 (OS) の不良と関連することを示した。京都大学医学部附属病院の切除標本を用いた IHC 解析では、大腸癌では正常大腸組織と比較して OPG の発現が有意に低下していることが確認され、OPG の発現低下は大腸癌の OS 不良と有意に相関していた。さらに、大腸癌の転移性肝腫瘍では、原発性大腸癌と比較して OPG の有意なダウンレギュレーションが認められた。次に、<i>in vitro</i> の解析から、OPG の発現自体は癌細胞の増殖や転移に直接的には影響しないことが示唆された。一方で、大腸癌細胞の OPG 発現は、主要な RANKL-RANK 経路である NFκB、PI3K、および MAPK シグナル伝達経路を阻害することによって、M2 マクロファージの活性を抑制した。<i>In vivo</i> の解析から、OPG の低発現は CD206 陽性 TAM を肝微小環境にリクルートすることによって大腸癌の肝転移を促進し、OPG の過剰発現または抗 RANKL 抗体による RANKL-RANK 経路の遮断は、CD206 陽性 TAM の蓄積を阻害することによって大腸癌の肝転移を抑制することが示された。</p> <p>【結論】 本研究は、大腸癌細胞における OPG のダウンレギュレーションが、腫瘍微小環境において TAM の活性化を介して肝転移を促進する分子機構を解明した。OPG または抗 RANKL 抗体による RANKL-RANK 経路の阻害は、大腸癌の肝転移に対する新たな治療戦略を提供する可能性がある。また、OPG のダウンレギュレーションは大腸癌の肝転移に対する抗 RANKL 治療の有効なマーカーとなりえる。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

腫瘍微小環境において RANKL-RANK シグナルが腫瘍進展に寄与することが示されており、RANKL の内因性デコイ受容体で RANKL-RANK シグナルを負に制御する osteoprotegerin (OPG) の抗腫瘍効果が期待される。しかし、大腸癌の腫瘍微小環境における OPG の役割はまだ不明である。本研究で申請者は、大腸癌肝転移における OPG の腫瘍微小環境での役割の解明を試み、治療への応用の可能性を検討した。公開データベース TCGA の *in silico* 解析と京都大学病院での大腸癌切除標本の免疫染色の解析では、大腸癌の OPG 発現低下が予後不良と関連し、肝転移巣では原発巣と比較して有意に OPG が発現低下していた。そこで申請者は、大腸癌細胞の OPG 過剰発現株とノックアウト株を樹立し、単球細胞株 THP1 をマクロファージへ分化させた dTHP1 を用いた *in vitro* の検証で、大腸癌細胞株単独では OPG 発現による細胞増殖や移動能に変化はないが、癌細胞での OPG 発現低下により、RANKL-RANK シグナルを介して dTHP1 マクロファージの遊走が活性化することを明らかにした。大腸癌肝転移巣の免疫染色では、OPG 発現低下と RANK 陽性 M2(腫瘍促進性)マクロファージの集積が相関することを明らかにした。さらに *in vivo* でマウス肝転移モデルを用いて、Opg 強制発現や抗 Rankl 抗体投与により、M2 マクロファージの集積が妨げられ、大腸癌肝転移を抑制することを明らかにした。以上の研究は大腸癌における OPG 発現低下の意義とそのメカニズムの解明に貢献し、OPG 低発現大腸癌肝転移に対する抗 RANKL 治療の開発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6年3月12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。

要旨公開可能日： 年 月 日以降