

京都大学	博士（医 学）	氏 名	松 末 亮
論文題目	Hepatic Stellate cells promote Liver Metastasis of Colon Cancer Cells by the Action of SDF-1/CXCR4 Axis (肝星細胞は SDF-1/CXCR4 の働きにより大腸癌の肝転移を促進する)		
(論文内容の要旨)			
大腸癌の予後は局所再発、リンパ行性転移および血行性転移により規定される。予後改善のためには、転移のメカニズムを明らかにし、転移に対する新しい治療戦略を見出すことが重要である。過去の報告によれば、大腸癌のみならず多くの癌の転移にケモカイン・ケモカイン受容体が関与していることが示されている。数あるケモカインファミリーの中で、SDF-1 およびその受容体 CXCR4 は大腸癌の転移に関わる重要な因子の一つであると考えられ、大腸癌における CXCR4 発現が予後不良因子であると報告されている。 SDF-1/CXCR4 の大腸癌遠隔転移に対する役割は、Zeenlenberg らのマウスモデルの実験で、転移巣への癌細胞誘導ではなく転移巣での増殖であることが示された。一方、他の報告では誘導や浸潤、あるいは増殖に関与するとも報告されている。大腸癌の転移に SDF-1/CXCR4 がいかに関わっているかは未だ確定しておらず、より詳細な研究が必要である。 最初に、大腸癌患者の原発巣および肝転移巣の CXCR4 発現を調べるため、免疫組織染色を行った。過去の報告では、発現の強弱しか検討されていないので、CXCR4 発現細胞の比率を調べたところ、肝転移のない大腸癌原発巣、肝転移のある大腸癌原発巣、肝転移巣の順に CXCR4 発現細胞の比率は増加していることがわかった。さらに同一患者における原発巣と転移巣との比較でも、すべての患者で CXCR4 発現細胞が増加していた。 次に、In vitro で大腸癌細胞株 HCT116 を用いて、SDF-1 刺激による proliferation assay、invasion assay、anti-apoptosis assay を行った。SDF-1/CXCR4 は invasion、anti-apoptosis に関与することがわかった。 In vivo ではマウス脾注肝転移モデルを用いた。CXCR4 阻害剤である AMD3100 投与により、肝腫瘍形成率が 78.6%から 23.1%に抑制された。 以上の結果から、大腸癌の肝転移に SDF-1/CXCR4 が関与していること、その役割は大腸癌細胞が肝臓において増殖するためでなく、より生存しやすくするために働くことが示唆された。 これまでの報告から、肝臓には豊富に SDF-1 が存在することが示されていたが、大腸癌の転移に関わる SDF-1 の分泌源は明らかではなかった。肝臓における SDF-1 の分泌源を明らかにするため、大腸癌肝転移巣を用いて αSMA および SDF-1 の免疫組織染色を行ったところ、大腸癌肝転移巣には αSMA を発現している癌周囲間質細胞が認められ、さらにその一部に SDF-1 の発現が一致している細胞群が認められた。 これまでの報告から、肝臓における αSMA 陽性の間質細胞は肝星細胞由来であるとされ、SDF-1 の分泌源は肝星細胞の可能性が考えられた。そこでマウス肝臓から肝星細胞を採取、誘導し、ELISA で SDF-1 を定量すると、非活性型ではほとんど SDF-1 は認められなかったが、活性型では多量の SDF-1 を分泌することが確認された。 そこで、大腸癌細胞と肝星細胞の直接的な関連を調べるため、肝星細胞様間質細胞株LI90 を HCT116 とマウス皮下へ共移植し、腫瘍形成能を評価した。その結果、HCT116 単独では 1×10⁵ 個以下の細胞数でほとんど腫瘍形成は認められなかったが、LI90 の存在により 1×10³個でも腫瘍形成することが確認された。さらにAMD3100 の投与により、その腫瘍形成が抑制されることも併せて認められた。 以上の結果から、大腸癌の肝転移に SDF-1/CXCR4 が関与し、特に肝星細胞が SDF-1 の分泌を介して肝臓における腫瘍形成に重要な役割を担っていることが示唆された。すでに非 Hodgikin 病患者に試験投与されている AMD3100 による肝転移抑制効果は、この薬剤が大腸癌患者の予後を改善するために有効な治療法となる可能性があり、実地臨床への応用が期待される。			

（論文審査の結果の要旨）

大腸癌の肝転移は、今なお手術に勝る治療法がなく、予後改善のためには肝転移の機構を明らかにし、より効果的な治療開発が必要である。そこで今回申請者は、大腸癌肝転移に関わるケモカイン SDF-1 およびその受容体 CXCR4 の働きを明らかにし、マウス肝腫瘍形成モデルを用いた特異的 CXCR4 阻害剤 AMD3100 による腫瘍形成抑制効果を検討した。まず、臨床検体にて大腸癌および肝転移巣の免疫染色の結果、CXCR4 発現細胞の頻度は大腸癌原発巣に比べて肝転移巣で有意に増加していた。大腸癌細胞株 HCT116 を用いた in vitro assay では SDF-1/CXCR4 が invasion、antiapoptosis に関わることを示した。マウス肝腫瘍形成実験では AMD3100 投与により腫瘍形成率が 78.6%から 23.1%に抑制された。次に、肝臓における SDF-1 発現細胞を調べるため、臨床検体の肝転移巣を SDF-1 およびαSMA で免疫染色すると、肝星細胞が SDF-1 を発現していることが推察された。また、マウス肝星細胞を採取し SDF-1 発現を ELISA で定量すると、活性型星細胞において多量の SDF-1 が発現することを確認した。ヒト肝星細胞株 LI90 と HCT116 のマウス皮下共移植による腫瘍形成では、LI90 が腫瘍形成を促進することを確認した。以上より大腸癌の肝転移において、肝星細胞が SDF-1/CXCR4 の働きを介し肝臓における腫瘍形成に関与をしていることを明らかにした。さらに AMD3100 による肝腫瘍抑制効果は今後肝転移治療につながる結果であると考えられた。

以上の研究は大腸癌肝転移のメカニズムの解明に貢献し、予後不良である肝転移の治療分野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、平成 22 年 12 月 7 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