



YKL40/Integrin $\beta 4$ Axis Induced by the Interaction between Cancer Cells and Tumor-Associated Macrophages Is Involved in the Progression of High-Grade Serous Ovarian...

山中, 啓太郎

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2025-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第9074号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/0100496355>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



(課程博士関係)

学 位 論 文 の 内 容 要 旨

YKL40/Integrin β 4 Axis Induced by the Interaction between Cancer Cells and
Tumor-Associated Macrophages Is Involved in the Progression of
High-Grade Serous Ovarian Carcinoma

がん細胞と腫瘍関連マクロファージの相互作用によって誘導される
YKL40/インテグリン β 4軸は、高異型度漿液性卵巣癌の進行に寄与する

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻
産科婦人科学 婦人科先端医療学分野
(指導教員：堀江 真史 教授、寺井 義人 特命教授)

山中 啓太郎

緒言

高異型度漿液性卵巣癌（HGSOC）は、卵巣癌の中で最も悪性度が高く、進行が速い腫瘍であり、婦人科癌の中で最も致死率が高い疾患の一つである。この疾患の予後不良の主な要因として、高い再発率と化学療法抵抗性が挙げられる。腫瘍微小環境は腫瘍の進展や治療抵抗性に重要な役割を果たしており、その中でも腫瘍関連マクロファージ（TAM）は腫瘍進行を促進する主要な因子として注目されている。TAMはM2マクロファージに分化し、腫瘍促進的な作用を持つことが知られているが、その分子メカニズムはまだ十分に解明されていない。

さらに、YKL40（CHI3L1としても知られる）は、腫瘍細胞や間質細胞から分泌される糖タンパクであり、細胞の増殖、遊走、浸潤、血管新生を促進する作用があるとされている。ただし、HGSOCにおけるYKL40の役割やTAMとの相互作用を介した腫瘍進行への影響については、これまでの研究では不明確な点が多く残されている。本研究では、HGSOCのTMEにおけるTAMと腫瘍細胞間の相互作用を調査し、その中でYKL40/Integrin β 4軸が果たす役割を明らかにすることを目的とした。

方法

本研究では、65例のHGSOC患者から採取した腫瘍組織を用い、免疫組織化学的解析を実施しました。TAMの特徴を評価するために、CD68、CD163、CD204の発現を調べ、腫瘍組織中のこれらのマーカー陽性細胞数を定量化した。この解析では、TAMの浸潤と患者の予後（全生存期間および無増悪生存期間）の関連を統計的に解析した。

また、腫瘍細胞とマクロファージの相互作用を調査するため、HGSOC細胞株とマクロファージを用いた間接共培養システムを構築した。このシステムにより、腫瘍細胞およびマクロファージが互いに及ぼす影響を解析した。共培養後の腫瘍細胞については、増殖能、遊走能、浸潤能を測定し、悪性形質の変化を評価した。

さらに、サイトカインアレイ解析を用いて、共培養条件下で分泌される因子を網羅的に調べた。YKL40が主要な分泌因子として特定されたため、YKL40の分泌量を詳細に測定し、腫瘍細胞に外因性YKL40を添加する実験を行った。この実験では、腫瘍細胞の挙動におけるYKL40の効果を調査した。

加えて、YKL40の受容体であるIntegrin β 4をノックダウンし、その影響を腫瘍細胞の増殖、遊走、浸潤、および細胞外シグナル調節キナーゼ（Erk）経路の活性化において評価した。最後に、患者の公的データベースを用い、YKL40およびIntegrin β 4の発現が患者の予後に与える影響を解析した。

結果

免疫組織化学的解析の結果、HGSOC腫瘍組織において、CD68、CD163、CD204

を発現する TAM が多く浸潤していることが確認された。これらの TAM マーカーの発現量が高い患者では、全生存期間および無増悪生存期間が有意に短いことが判明し、TAM の浸潤が予後不良と関連していることが示された。

共培養実験では、腫瘍細胞とマクロファージの相互作用によって、マクロファージは M2 への分化が促進された。同時に、腫瘍細胞では増殖能、遊走能、浸潤能が顕著に向上した。これにより、TAM が腫瘍細胞の悪性形質を助長する役割を果たしていることが示唆された。

サイトカインアレイ解析では、共培養条件下で YKL40 の分泌が著しく増加していることが明らかになった。さらに、外因性 YKL40 を腫瘍細胞に添加したところ、細胞の増殖、遊走、浸潤が有意に促進された。この効果は、Erk シグナル経路の活性化によって媒介されていることが確認された。

Integrin $\beta 4$ の役割を調べるため、Integrin $\beta 4$ をノックダウンした腫瘍細胞を用いた実験では、YKL40 による増殖、遊走、浸潤促進効果が抑制され、Erk 経路の活性化も低下した。この結果から、YKL40/Integrin $\beta 4$ 軸が腫瘍細胞の悪性形質の獲得に重要であることが示された。

公的データベースの解析では、YKL40 および Integrin $\beta 4$ の高発現が HGSOC 患者の予後不良と強く相関していることが確認された。これにより、YKL40/Integrin $\beta 4$ 軸が HGSOC の臨床的に重要なマーカーである可能性が示された。

結論

本研究は、HGSOC における TAM と腫瘍細胞の相互作用が腫瘍進行を促進するメカニズムを解明し、その中で YKL40/Integrin $\beta 4$ 軸が中心的な役割を果たしていることを明らかにした。TAM は腫瘍微小環境内で YKL40 の分泌を促進し、これが腫瘍細胞の悪性形質を増強した。さらに、YKL40 の受容体である Integrin $\beta 4$ が Erk シグナル経路を活性化し、腫瘍細胞の増殖、遊走、浸潤を促進することが示された。

これらの結果から、YKL40/Integrin $\beta 4$ 軸は HGSOC の新たな治療標的としての可能性を秘めており、特に TAM を標的とした治療アプローチが有望であることが示唆された。本研究は、HGSOC の治療戦略における新たな方向性を提示しており、腫瘍微小環境を操作する治療法の開発に貢献する重要な基盤となるものである。

論文審査の結果の要旨			
受 付 番 号	甲 第 3453 号	氏 名	山中 啓太郎
論 文 題 目 Title of Dissertation	YKL40/Integrin $\beta 4$ Axis Induced by the Interaction between Cancer Cells and Tumor-Associated Macrophages Is Involved in the Progression of High-Grade Serous Ovarian Carcinoma がん細胞と腫瘍関連マクロファージの相互作用によって誘導される YKL40/インテグリン $\beta 4$ 軸は、高異型度漿液性卵巣癌の進行に寄 与する		
審 査 委 員 Examiner	主 査 南 康博 Chief Examiner 副 査 松 地 弘 Vice-examiner 副 査 鈴 木 聡 Vice-examiner		

（要旨は1, 000字～2, 000字程度）

高異型度漿液性卵巣癌（HGSOC）は、卵巣癌の中で最も悪性度が高く 進行も速いため、婦人科癌の中で最も致死率が高い疾患の一つである。HGSOC の予後不良の主要因として高い再発率と化学療法抵抗性が挙げられる。腫瘍微小環境は腫瘍の進展や治療抵抗性に重要な役割を担い、特に腫瘍関連マクロファージ（TAM）は腫瘍進行を促進する主要な因子として注目されている。TAM は M2 マクロファージに分化し、腫瘍促進的作用を持つことが知られているが、その分子機構は未だ不明な点が多い。YKL40（別称 CHI3L1）は、腫瘍細胞や間質細胞から分泌される糖タンパクであり、細胞の増殖、遊走、浸潤、血管新生の促進作用が知られている。一方、HGSOC における YKL40 の役割や TAM との相互作用を介した腫瘍進行への影響については、未解明である。本研究では、HGSOC の TME における TAM と腫瘍細胞間の相互作用を調査し、特に YKL40/Integrin $\beta 4$ 軸が担う役割の解明を目的とした。

方法 本研究では、65 例の HGSOC 患者から採取した腫瘍組織を用い、免疫組織化学的解析を実施した。TAM の特徴評価のため、CD68、CD163、CD204 の発現を解析し、腫瘍組織中のこれらのマーカー陽性細胞数を定量化した。また、TAM の浸潤と患者の予後（全生存期間及び無増悪生存期間）の関連を統計的に解析した。

また、腫瘍細胞とマクロファージの相互作用を解析するため、HGSOC 細胞株とマクロファージの間接共培養システムを構築した。本システムにより、腫瘍細胞及びマクロファージが互いに及ぼす影響を解析した。共培養後の腫瘍細胞の増殖能、遊走能、浸潤能を測定し、悪性形質の変化を評価した。

さらに、サイトカインアレイ解析により、共培養条件下で分泌される因子を網羅的に探索した。YKL40 が主要な分泌因子として特定されたため、YKL40 の分泌量を詳細に測定するとともに、腫瘍細胞への外因性 YKL40 の添加実験を行い、腫瘍細胞の挙動における YKL40 の効果を検討した。

加えて、YKL40 の受容体である Integrin $\beta 4$ をノックダウンし、腫瘍細胞の増殖、遊走、浸潤、及び細胞外シグナル調節キナーゼ（Erk）経路の活性化に与える影響を評価するとともに、患者の公的データベースを用い、YKL40 及び Integrin $\beta 4$ の発現が患者予後に与える影響を解析した。

結果 免疫組織化学的解析により、HGSOC 腫瘍組織において、CD68、CD163、CD204 を発現する TAM が多く浸潤していることが確認された。これら TAM マーカーの発現量が高い患者では、全生存期間および無増悪生存期間が有意に短いことが判明し、TAM の浸潤が予後不良と関連していることが示された。

共培養実験では、腫瘍細胞とマクロファージの相互作用により、マクロファージは M2 への分化が促進されるとともに、腫瘍細胞の増殖能、遊走能、浸潤能の顕著な亢進が見出さ

れ、TAM が腫瘍細胞の悪性形質を助長する役割を担うことが示された。サイトカインアレイ解析では、共培養条件下で YKL40 の分泌が著しく増加しており、外因性 YKL40 の腫瘍細胞への添加実験では、細胞の増殖、遊走、浸潤が有意に促進され、この効果は Erk シグナル経路の活性化により媒介されることが確認された。また、Integrin $\beta 4$ をノックダウンした腫瘍細胞を用いた解析では、YKL40 による増殖、遊走、浸潤促進効果が抑制され、Erk 経路の活性化も低下しており、YKL40/Integrin $\beta 4$ 軸が腫瘍細胞の悪性形質の獲得に重要であることが示された。さらに、公的データベースの解析から、YKL40 及び Integrin $\beta 4$ の高発現が HGSOC 患者の予後不良と強く関連していることが確認された。以上より、YKL40/Integrin $\beta 4$ 軸が HGSOC の臨床的に重要なマーカーである可能性が示された。

本研究は、高異型度漿液性卵巣癌(HGSOC)における TAM と腫瘍細胞の相互作用が腫瘍進展を促進する機構解析を行なったものであるが、従来殆ど不明であった HGSOC における腫瘍微小環境内での腫瘍関連マクロファージ(TAM)の役割、すなわち TAM が YKL40 の分泌を促進し、YKL40/Integrin $\beta 4$ 軸が腫瘍細胞の悪性形質の増強において中心的な役割を担うことなどの重要な知見を得たものとして 価値ある集積であると認める。よって、本研究者は博士（医学）の学位を得る資格があると認める。