

(書式12)

氏 名	サクライ ミナコ 櫻井 美奈子
学 位 の 種 類	博士 ( 医 学 )
学位授与年月日	平成 28 年 3 月 25 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学系研究科 (博士課程) 医科学 専攻
学位論文題目	乳癌微小環境における癌細胞と脂肪細胞の相互作用に関する S100A7 及び Lipocalin-2 の発現意義に関する研究
論文審査委員	主査 教授 笹野 公伸 教授 高橋 和広 教授 伊藤 潔

## 論 文 内 容 要 旨

癌組織には癌細胞のみならず、線維芽細胞、炎症細胞、脂肪細胞など、多種類の間質細胞より構成されている。特に脂肪細胞は乳房組織全体の構成に不可欠な役割を担っており、乳癌においても癌細胞との相互作用が明らかとなっている。また、乳癌組織中の脂肪細胞は、脂肪特異マーカーが減少、炎症性サイトカインの発現上昇、更に脂肪滴が減少することが認められている。癌組織中におけるこれらの性質変化した脂肪細胞は Cancer-Associated Adipocytes (CAA) と総称されており、癌細胞の悪性化を亢進することが報告されているにも関わらず、その詳しいメカニズムはまだ不明な点が多く残されている。本研究では、癌細胞との相互作用により性質変化した脂肪細胞が乳癌細胞へどのような影響を及ぼすのか検討を行った。

始めに、本研究で用いた実験系において、ヒト、及びマウス脂肪細胞を用いて乳癌細胞との共培養によって性質変化した、脂肪細胞由来の液性因子が乳癌細胞の増殖能、遊走能や浸潤能を有意に亢進することを明らかとした。更に、脂肪細胞と共培養を行った癌細胞における遺伝子発現を網羅的に解析するためにマイクロアレイを用いてスクリーニングを行った。その結果、共培養を行った MCF7 において最も過剰に発現上昇が認められた S100A7 (5.80-fold)、共培養を行った MCF7 と MDA-MB-231 に共通して有意な発現上昇が認められた Lipocalin-2 (LCN2) (4.75-fold、2.55-fold) に着目し、それぞれの乳癌における発現意義について精査した。

次に S100A7 ノックダウンによって、脂肪由来液性因子により誘導された乳癌細胞が有意に抑制されることを明らかとした。乳癌患者 150 症例を対象とし S100A7 の発現を免疫組織学的に解析したところ、Ki-67 Labeling Index (LI) や臨床病期、組織型と有意な正相関が認められた。S100A7 の高発現は再発率、及び生存率の低下と有意に相関しており、多変量解析にて独立した再発の予後不良因子であることが示された。また、S100A7 を誘導する IL-6 の受容体、及び gp130、更に S100A7 を介して乳癌の増殖や浸潤を亢進する Jab 1、及び RAGE も脂肪細胞と共培養を行った乳癌細胞で有意に発現上昇することが認められた。

一方で、LCN2 の発現抑制によって、S100A7 同様に脂肪由来液性因子により誘導された増殖能、遊走能、及び浸潤能が有意に減少することを認めた。LCN2 誘導因子であると報告されている STAT1、及び p65 も LCN2 と同じく脂肪細胞との共培養後の癌細胞において発現上昇し、これらの因子をノックダウンすることにより、LCN2 発現が有意に減少した。更に、乳癌患者 143 症例を対象とした LCN2 の免疫組織化学では、Ki-67 LI や組織型と有意な正相関が認められた。また、公共データベース解析では LCN2 は生存率の予後不良因子であることが示された。LCN2 は MMP9 と結合することで乳癌の血管新生や浸潤を亢進することが明らかとなっており、本研究においても脂肪細胞との共培養により乳癌細胞における MMP9 の発現上昇、癌細胞との共培養による脂肪細胞からの VEGF-A 発現上昇、また、免疫組織化学にて血管内皮マーカーである Microvessel Density と LCN2 との有意な正相関が認められた。

以上の結果より、浸潤性乳癌微小環境では、癌周辺脂肪細胞からパラクリン作用によって分泌された液性因子のシグナル経路を介し、癌細胞にて S100A7、及び LCN2 の発現が亢進することにより、悪性度に関与することが考えられた。

## 審 査 結 果 の 要 旨

博士論文題目 ..... 乳癌微小環境における癌細胞と脂肪細胞の相互作用に關与する S100A7 及び  
Lipocalin-2 の発現意義に關する研究 .....

所属専攻・分野名 ..... 医科学専攻 ..... 病理診断学分野 .....

学籍番号 ..... B2MD5049 ..... 氏名 ..... 櫻井 美奈子 .....

癌組織では癌細胞に加えて間質細胞が重要な構成因子となっており、これら両者の相互作用、**cross talk** が癌細胞の進展に重要な役割を果たしている事が近年大きな注目を集めている。特に乳がんでは周囲の間質細胞は大部分が脂肪細胞であり、癌細胞との相互作用で性状が変化した脂肪細胞は **Cancer-Associated Adipocytes (CAA)** と総称されており、癌細胞の悪性化を亢進することが報告されているにも関わらず、その詳しいメカニズムはまだ不明な点が多く残されている。そこで今回櫻井は癌細胞との相互作用により性質変化した脂肪細胞が乳癌細胞へどのような影響を及ぼすのか検討を行った。最初に櫻井はヒト、及びマウス脂肪細胞を用いて乳癌細胞との共培養によって性質変化し、脂肪細胞由来の液性因子が乳癌細胞の増殖能、遊走能や浸潤能を有意に亢進することを明らかとして、その原因因子として **S100A7** と **Lipocalin-2 (LCN2)** を網羅的解析により同定し詳細に検討を重ねた。**S100A7** ノックダウンによって、脂肪由来液性因子により誘導された乳癌細胞が有意に抑制されることを明らかとし、更に実際の乳癌患者では **S100A7** が高発現すると再発率、及び生存率の低下をもたらし、多変量解析にてこの **S100A7** は独立した再発の予後不良因子である事を初めて示した。一方 **LCN2** の発現抑制によって、**S100A7** 同様に脂肪由来液性因子により誘導された増殖能、遊走能、及び浸潤能が有意に減少することを認め、実際の乳癌症例では **LCN2** は生存率の予後不良因子であることを同様に初めて明らかにした。以上より櫻井は乳癌微小環境では、癌周辺脂肪細胞からパラクリン作用によって分泌された液性因子のシグナル経路を介し、癌細胞にて **S100A7**、及び **LCN2** の発現が亢進することにより、悪性度に関与することを初めて証明した。このように今回の櫻井の研究は乳癌細胞と脂肪細胞との相互作用の詳細を初めて明らかにした優れた内容であり、今後の更なる発展が期待される優れた研究成果であるとも考えられる。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。