

# 松原 恵理 氏の在学期間短縮に関わる学位論文審査の要旨

(在学期間短縮申請者氏名)

## 論文題目

SPP1 Derived from Macrophages Is Associated with a Worse Clinical Course and Chemo-Resistance in Lung Adenocarcinoma

(マクロファージ由来のSPP1は肺腺癌において予後不良、抗癌剤耐性に関与する)

Secreted phosphoprotein 1 (SPP1)、別名オステオポンチン(Osteopontin)は、リン酸化糖蛋白質の一種であり、ヒトの多くの組織や細胞に存在し、創傷治癒、骨のホメオスタシス、細胞外マトリックス機能など重要な役割を果たしている。SPP1は癌細胞にも発現する因子であり、各種癌でSPP1高発現群は生存率が低いことが報告されている。最近、SPP1がマクロファージから産生されることで注目されているが、癌組織におけるSPP1発現を厳密に癌細胞・マクロファージと区別して解析を行った研究はない。そこで、本研究では、熊本大学病院呼吸器外科で切除術を施行した肺腺癌228例、肺扁平上皮癌103例を対象に、癌細胞およびマクロファージにおけるSPP1発現の意義を解析した。

肺癌細胞のSPP1発現同定にはIba-1(汎マクロファージマーカー)との二重染色でマクロファージを除外し、マクロファージにおけるSPP1発現はPU.1(マクロファージ核に陽性)を加えた二重染色を行い、それぞれ評価を行った。また、培養マクロファージと肺がん細胞株を用いて、マクロファージにおけるSPP1発現のメカニズム、SPP1の抗癌剤耐性への関与に関する検討をおこなった。肺腺癌において癌細胞におけるSPP1発現は予後と相関しなかったが、マクロファージにおけるSPP1発現は予後と相関することが分かった。特に、EGFR遺伝子野生型症例において予後との相関が顕著であった。次に、培養マクロファージ、THP-1細胞株、肺癌細胞株10種におけるSPP1発現をPCRで評価したところ、肺癌細胞株では発現量に細胞株間で違いがみられ、マクロファージとTHP-1ではSPP1が高発現していた。また、GM-CSFで誘導したマクロファージはM-CSFで誘導したマクロファージよりもSPP1が高発現していた。更に、抗癌剤投与下で肺癌細胞株にマクロファージの培養上清、もしくはSPP1タンパクを添加したところ、肺癌細胞株の生存率が優位に増加し、B-cell-specific Moloney leukemia virus insertion site 1 (BMI1)が抗癌剤耐性に関与していることを示した。

審査では、①SPP1におけるリン酸化・糖化の意義、②癌細胞とマクロファージの分泌するSPP1の違いはあるのか、③SPP1による抗ガン剤耐性の機序、④マクロファージ以外の細胞におけるSPP1の発現、⑤肺腺癌と扁平上皮癌における結果の相違に関する考察、⑥組織標本におけるマクロファージと癌の明確な区別が可能であったか、⑦In site hybridizationと免疫染色の結果は同じであったかどうか、などについて質疑がなされ、申請者からは概ね適切な回答と考察がなされた。

本研究は、マクロファージにおけるSPP1発現は肺腺癌において予後不良因子であり、特にSPP1は肺腺癌細胞の抗癌剤耐性に関与していることを示し、肺癌におけるSPP1の役割の一端を解明した点で意義のある研究であり、学位授与に値する研究であると評価された。

審査委員長 造血・腫瘍制御学担当教授

岡田 誠治