

氏 名	PIAO TIANYAN
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	歯 学
学位授与番号	博甲第7434号
学位授与の日付	令和 8年 3月 25日
学位授与の要件	医歯薬学総合研究科病態制御科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	Effect of Oral Peritumoral Tissue on Infiltration and Differentiation of Tumor-Associated Macrophages in Oral Squamous Cell Carcinoma (腫瘍周囲組織が腫瘍関連マクロファージの集簇と分化に与える影響について)
論文審査委員	岡村 裕彦 教授 江口 傑徳 准教授 國定 勇希 准教授

学位論文内容の要旨

【緒言】

固形腫瘍は腫瘍実質と腫瘍間質から構成され、両者の相互作用を介して腫瘍の進展や浸潤、転移が制御されている。腫瘍微小環境 (Tumor Microenvironment: TME) を構成する主要な細胞には線維芽細胞、血管内皮細胞、免疫細胞などが含まれ、なかでもマクロファージは腫瘍増殖や血管新生を促進することが報告されている。マクロファージは、炎症性で抗腫瘍的なM1型と、免疫抑制的で腫瘍促進的なM2型に分類され、腫瘍関連マクロファージ (Tumor-Associated Macrophages: TAMs) の多くはM2型の性質を示す。口腔扁平上皮癌 (Oral Squamous Cell Carcinoma: OSCC) のTMEにおいてTAMsの集簇や分極についての報告が散見される。一方、我々の先行研究において、OSCC進展過程において、癌細胞が歯肉結合組織細胞 (Gingival Connective Tissue Cells: GCTCs) および歯根膜細胞 (Periodontal Ligament Cells: PDLCs) との相互作用により、GCTCsがOSCCの浸潤を促進し、PDLcsが抑制することを明らかにした。しかし、これら腫瘍周囲組織による腫瘍浸潤制御におけるTAMsの関与は不明である。そこで本研究では、腫瘍周囲組織であるGCTCsおよびPDLCsが、TAMsの集簇および分極に及ぼす影響をin vitroとin vivoで検討した。

【材料と方法】

腫瘍細胞は高分化型OSCC細胞株 (HSC-2) と中分化型OSCC細胞株 (HSC-3) を使用した。また、マクロファージ前駆細胞としてRAW264.7、腫瘍周囲組織細胞として抜歯時に採取した患者由来のGCTCsおよびPDLCsを使用した。In vitroでは、GCTCs/PDLCsとHSC-2/HSC-3およびRAW264.7を共培養し、RAW264.7の遊走能およびM1型、M2型への分極を評価した。In vivoでは、HSC-2/HSC-3単独またはHSC-2/HSC-3とGCTCs/PDLCsをそれぞれヌードマウス頭部に移植し、4週間後に摘出、免疫組織化学染色によりTAMsの浸潤および分極を解析した。

【結果】

In vitro においてGCTCsとHSC-2/HSC-3の共培養群では、RAW264.7の遊走能は促進されたが、PDLCsではこれらが抑制された。また、RAW264.7の分極はGCTCsとHSC-2/HSC-3の共培養群ではM2型マクロファージへの分極が誘導され、PDLCsとHSC-2/HSC-3の共培養群では、M1型マクロ

ファージへの分極が誘導された。In vivo 実験系では、GCTCsとHSC-2/HSC-3のいずれの共移植群においてM2型マクロファージの腫瘍周囲組織への集簇が増加したが、PDLcsとHSC-2/HSC-3のいずれの共移植群において腫瘍周囲組織にM2型マクロファージの集簇が抑制され、M1型マクロファージの集簇が増加した。これらの結果から、GCTCsはTAMsの集簇およびM2型マクロファージの分極を促進し、PDLcsはTAMsの集簇抑制およびM1型マクロファージへの分極を誘導することが示唆された。さらに、HSC-2とHSC-3細胞株間でのマクロファージM2型マクロファージ集簇および分極誘導の差異は、HSC-2の方がHSC-3よりも強い集簇能、分極誘導能を示した。

【考察】

本研究は、OSCCにおける腫瘍実質と腫瘍周囲組織との相互作用によるTAMsの集簇・分極が腫瘍進展に関与する可能性を示唆した。従来のTAMsに関する腫瘍進展研究が腫瘍実質による直接的なTAMsの集簇や分極に焦点を当てていたのに対し、本研究は腫瘍周囲組織の性格がTMEにおけるマクロファージ動態を調節する可能性を示した。今後の展望として、GCTCsおよびPDLcsが分泌するサイトカインやケモカインの同定、ならびに単一細胞解析によるTAMsの多様性の評価を進めることで、OSCCの微小環境制御機構のさらなる理解と新規治療戦略の開発を推進する。

論文審査結果の要旨

【緒言】口腔扁平上皮癌（Oral Squamous Cell Carcinoma: OSCC）の進展過程において、腫瘍周囲の結合組織細胞は腫瘍浸潤に対して相反する作用を示すことが報告されている。また、腫瘍関連マクロファージ（Tumor-Associated Macrophages: TAMs）は腫瘍進展に関与する重要な因子とされているが、結合組織細胞とTAMsとの関連は明らかではない。そこで本研究では、腫瘍周囲結合組織がTAMsの集簇および分極に及ぼす影響について検討した。

【方法】腫瘍細胞はヒトOSCC細胞株の高分化型(HSC-2)と中分化型(HSC-3)を使用し、TAMsはマウスマクロファージ前駆細胞RAW264.7から誘導を行った。また、結合組織細胞には抜歯時に採取した患者由来の歯肉結合組織細胞（Gingival Connective Tissue Cells: GCTCs）および歯根膜細胞（Periodontal Ligament Cells: PDLcs）を使用した。*In vitro*では、GCTCs/PDLcsとHSC-2/HSC-3およびRAW264.7を共培養し、RAW264.7の遊走能および抗腫瘍的なM1型マクロファージ、腫瘍促進的なM2型マクロファージへの分極を評価した。*In vivo*では、HSC-2またはHSC-3単独、あるいはHSC-2またはHSC-3とGCTCsもしくはPDLcsを混合して、ヌードマウス頭部皮下に移植した。移植後4週間で腫瘍を摘出し、免疫組織化学染色によりTAMsの浸潤および分極を解析した。

【結果】*In vitro*実験系において、GCTCsとHSC-2あるいはHSC-3の共培養によりRAW264.7の遊走能は促進し、M2型への分極が誘導された。一方、PDLcsとの共培養ではRAW264.7の遊走能は抑制され、M1型への分極が誘導された。*In vivo*実験系においても、GCTCsとの共移植群では腫瘍周囲組織へのM2型の集簇が増加した一方、PDLcsとの共移植群ではM2型の集簇が抑制され、M1型の集簇が増加した。さらに、これらの傾向はHSC-3と比較してHSC-2においてより顕著であった。

【考察】本研究は、OSCCにおいて腫瘍周囲結合組織の性格がTAMsの集簇および分極に影響を与え、腫瘍進展に関与する可能性を示唆した。本研究は腫瘍周囲組織が腫瘍微小環境におけるマクロファージ動態を調節する可能性を明らかにした。今後、腫瘍周囲結合組織由来因子の解析を進めることで、新規治療戦略の開発につながることを期待される。

本研究は結合組織細胞の性質が腫瘍微小環境におけるマクロファージ動態を制御し、腫瘍進展に寄与するという新しい知見を得た。得られた成果は新規性に富んでおり、腫瘍周囲間質を標的とした新たな治療戦略の開発において重要な基盤となるものである。本論文はすでに Cells誌 に受理・掲載されており、国際的にも評価されている。

よって、審査委員会は本論文に博士（歯学）の学位論文としての価値を認める。