

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	トリプルネガティブ乳がんの新規治療標的の探索
Title(English)	
著者(和文)	平野龍一郎
Author(English)	Ryuichiro Hirano
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第12454号, 授与年月日:2023年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:近藤 科江,小俣 透,西山 伸宏,越川 直彦,門之園 哲哉
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12454号, Conferred date:2023/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース：生命理工学系 Department of Graduate major in ライフエンジニアリング コース	申請学位 (専攻分野)：博士 (工学) Academic Degree Requested Doctor of
学生氏名：平野 龍一郎 Student's Name	指導教員 (主)：近藤 科江 Academic Supervisor(main)
	指導教員 (副)： Academic Supervisor(sub)

要旨 (和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters)

本論文は「トリプルネガティブ乳がんの新規治療標的の探索」と題し、以下の5章より構成される。

第1章「研究の背景」では、乳がんのサブタイプ分類、トリプルネガティブ乳がん (TNBC) の難治性、現在の乳がん治療戦略についてまとめ、TNBC 治療の課題を述べた。加えて、新規 TNBC 治療法の開発のために本研究で注目した乳腺脂肪組織、腫瘍随伴マクロファージ (TAM)、乳腺組織常在性マクロファージ (MGTRM) についても概説した。乳腺脂肪組織は乳がん細胞とサイトカインを介して相互作用することが知られており、標的として TNBC 治療を実現できる可能性がある。また、TAM は腫瘍内で様々な悪性化作用を示し、がんの有望な治療標的として注目されているが、その不均一性から臨床応用に至っていない。最近、単球由来 TAM とは異なる固有の腫瘍促進作用を持つ組織常在性マクロファージ (TRM) 由来の TAM が新規標的として注目されている。がんと TRM の関連についてまとめ、乳腺脂肪組織に注目した治療標的の探索、MGTRM の細胞標的としての評価、および、TNBC 再発治療法の開発を行う本研究の目的を述べた。

第2章「*In vitro* での新規治療標的の探索」では、TNBC 新規治療標的の探索のために実施した *in vitro* 解析について述べた。まず、乳腺脂肪組織の直接的な TNBC 促進作用を検証するため、乳腺脂肪組織と TNBC の共培養系を立ち上げ、乳腺脂肪組織の TNBC 細胞増殖促進効果を明らかにした。次に新規分子標的の同定のために、共培養上清に含まれるサイトカインを解析し、標的候補となるサイトカインを中和抗体で阻害することで、TNBC 増殖促進に寄与する新規サイトカインを同定した。また、同じ *in vitro* 共培養系を用いて、乳腺脂肪組織中の MGTRM が顕著な TNBC 増殖促進作用を持つことを明らかにした。この章では、サイトカインの分子標的よりも MGTRM の細胞標的の方が TNBC 増殖抑制効果が確実に得られるため、新規治療標的として MGTRM を更に検証していくことを結論として述べた。

第3章「MGTRM の TNBC 増殖促進作用の検証」では、MGTRM が TAM として TNBC 増殖促進に寄与する機構を明らかにするために、マウス TNBC の同系同所移植モデルを用いて解析した。まず初めに、マウス TNBC 細胞をマウス第4乳腺組織に移植し、血管形成前の腫瘍を免疫組織化学染色で解析し、MGTRM が TNBC 腫瘍に早期段階から浸潤する主要な間質細胞であることを明らかにした。次に、マクロファージ阻害剤として知られているクロドロン酸内包リポソーム (CL) を局所投与して MGTRM を枯渇させた乳腺に TNBC 細胞を移植して、MGTRM の腫瘍増殖への寄与を調べた。CL 処理乳腺に移植した TNBC 腫瘍は、コントロールの PBS 内包リポソーム (PL) 処理乳腺に移植した腫瘍と比べて腫瘍増殖が有意に抑制され、MGTRM は TAM として TNBC 増殖に寄与することを見出した。さらに、PL/CL 処理乳腺に移植した TNBC 腫瘍内の血管を免疫組織化学染色で解析した結果、CL 処理乳腺に移植した TNBC で腫瘍血管密度が有意に減少しており、MGTRM は間接的な増殖促進作用とし

て血管新生にも寄与することが分かった。一般に、血流を介して腫瘍に侵入する単球が TAM の前駆細胞として注目されているが、MGTRM が早期 TNBC においてどの程度前駆細胞として貢献するかについてもこの章で検証した。免疫組織化学染色による TAM の定量解析では、PL と比べて CL 処理乳腺に移植した腫瘍で長期にわたり有意な TAM の減少が確認された。CL 処理後の乳腺脂肪組織のフローサイトメトリ解析でも、TAM の長期的な減少と MGTRM の阻害期間が相関していることが分かり、MGTRM が早期 TNBC において、TAM の主要な前駆細胞であるという新たな知見を得た。

第 4 章「MGTRM を標的とした TNBC 再発治療法の開発」では、MGTRM 細胞標的の TNBC 治療への応用について検討した。TNBC では術後早期の再発と遠隔転移が課題となっている。そこで MGTRM の乳腺組織局所性と早期の TNBC 促進作用に着目し、腫瘍切除直後の CL による MGTRM 阻害で再発や遠隔転移に対する抑制効果が得られるかを、マウス TNBC 局所再発モデルを構築して検証した。切除部位を CL で処理するプロトコールを最適化することにより、顕著な局所再発抑制効果が見られ、化学療法と併用することで、更なる局所再発抑制と有意な遠隔転移抑制効果が確認された。

第 5 章「考察・今後の展望」では、本研究で得られた結果を総括して考察するとともに、MGTRM 細胞標的治療の臨床応用について、今後の課題と展望を述べた。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1 copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

(博士課程)
Doctoral Program

論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース：生命理工学 系
Department of Graduate major in ライフエンジニアリング コース
学生氏名：平野 龍一郎
Student's Name

申請学位(専攻分野)：博士 (工学)
Academic Degree Requested Doctor of
指導教員(主)：近藤 科江
Academic Supervisor(main)
指導教員(副)：
Academic Supervisor(sub)

要旨(英文 300 語程度)

Thesis Summary (approx.300 English Words)

Triple negative breast cancer (TNBC) is the most aggressive subtype of breast cancer and has no clear therapeutic target. Therefore, treatment options are limited. Furthermore, TNBC has a higher risk of early postoperative local recurrence than other breast cancers. Current postoperative adjuvant chemotherapy does not effectively prevent local recurrence, and novel treatment are urgently needed. Recently, tumor-infiltrating stromal cells has attracted attention as therapeutic targets. In this study, to identify novel therapeutic targets for TNBC, I examined the TNBC-promoting effects of mammary gland tissue resident macrophages (MGTRMs), whose contribution to TNBC has not been previously known.

First, to verify the TNBC-promoting effects of MGTRMs *in vitro*, a co-culture system of mouse TNBC cells and mouse mammary gland fat pad (MGFP) was established. Co-culture with MGFP markedly promoted the proliferation of TNBC cells, but the addition of clodronate liposomes (CL), a macrophage inhibitor, to MGFP suppressed the promotion of proliferation. Inhibition of cytokines in the co-culture did not suppress TNBC cell proliferation as much as MGTRM inhibition, so I decided to further evaluated MGTRMs *in vivo* as a novel cell target.

Next, I used the mouse TNBC syngeneic transplantation model to test whether MGTRMs contribute to TNBC promotion *in vivo*. The contribution of MGTRMs to tumor growth was examined by transplanting TNBC cells one day after topical injection of CL to the MGFP. Depletion of MGTRM from MGFP suppressed the early growth of TNBC tumors and significantly reduced angiogenesis and tumor associated macrophages. These results indicate that MGTRMs have tumor-promoting effects in the early stage of TNBC.

Finally, for TNBC therapeutic application, the efficacy of MGTRM inhibition in treating TNBC recurrence was evaluated in a mouse model of local recurrence. When MGTRMs were depleted from the MGFP at the site of resection of TNBC by CL, the local recurrence was significantly suppressed. In addition, the combination of chemotherapy and topical MGTRM depletion further suppressed the local recurrence and distant metastasis of TNBC.

These results provide a novel strategy for the prevention of TNBC recurrence through targeting MGTRMs.

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).