

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	低酸素誘導因子活性を有する腫瘍内浸潤細胞のin vivo光イメージング
Title(English)	
著者(和文)	宮原瞳
Author(English)	Hitomi Miyabara
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京科学大学, 報告番号:甲第255号, 授与年月日:2025年3月26日, 学位の種類:課程博士, 審査員:門之園 哲哉,越川 直彦,西山 伸宏,小倉 俊一郎,折原 芳波,近藤 科江
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Institute of Science Tokyo, Report number:甲第255号, Conferred date:2025/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

論文審査の要旨及び審査員

(2000字程度)

報告番号	乙 第 号	学位申請者	宮原 瞳	
	氏 名	職 名	氏 名	職 名
論文審査員	主査 門之園 哲哉	准教授	折原 芳波	准教授
	越川 直彦	教授	近藤 科江	奈良工業高等専門学校 校長
	西山 伸宏	教授		
	小倉 俊一郎	准教授		

本論文は「低酸素誘導因子活性を有する腫瘍内浸潤細胞の *in vivo* 光イメージング」と題し、6章から構成され、日本語で書かれている。

第1章「研究の背景」では、腫瘍内の低酸素微小環境などにより、がん細胞や腫瘍内の間質細胞では低酸素誘導因子 (hypoxia inducible factor, HIF) が活性化しており、この HIF 活性化細胞は、腫瘍の発がん、増殖、及び転移・浸潤・治療抵抗性などの悪性化に関与するため、重要な治療標的であることが述べられている。さらに、HIF 活性化細胞の挙動を蛍光イメージングで時空間的に解析するために、蛍光酵素レポーターを導入したトランスジェニック (transgenic, Tg) マウスの作製が進められてきたが、腫瘍内の免疫細胞など非がん細胞の役割に注目が集まっている中、免疫細胞などの HIF 活性を高感度に検出可能なモデルがないという問題点を指摘し、本研究では、高感度レポーターを導入した Tg マウスを作製し、この Tg マウスを用いて腫瘍内の HIF 活性を有する非がん細胞を解析し、その種類を特定することで、腫瘍内 HIF 活性の新たな機能を解明するという本研究の目的を述べている。

第2章「高感度 HIF 活性レポーター遺伝子を導入した Tg マウスの作製と評価」では、蛍光酵素 AkaLuc と基質 AkaLumine により生体透過性のよい波長域の光を放つ AkaBLI システムを応用し、HIF が結合するエンハンサー配列と最小プロモーターの下流に緑色蛍光タンパク質 Venus と AkaLuc の融合タンパク質 Venus-AkaLuc をコードする遺伝子を持つレポーター遺伝子 (HVA レポーター) を組み込んだ HVA-Tg マウスを構築したことを述べている。HVA-Tg マウスでは、基質の投与により HIF 活性化細胞から強い発光シグナルが得られた一方で、non-Tg マウスの肝臓では基質由来の自家発光が見られたことを述べている。

第3章「AkaBLI による生体イメージングにおける自家発光シグナルの評価」では、第2章で基質由来の自家発光が確認されたことから、HVA-Tg マウスの腫瘍解析時に影響が懸念される自家発光レベルを解析している。腫瘍内に多く存在する活性酸素を想定し、基質と過酸化水素を反応させた際の自家発光は、AkaLuc の発光スペクトルとはわずかではあるがピーク値が異なっており、蛍光酵素と基質の発光量よりも十分に低く、また、non-Tg の担がんモデルマウスに基質を投与した際の腫瘍からの発光シグナルを測定した結果、いずれも 3000 p/s/cm²/sr 未満であったことから、このシグナルより高い値の場合は HIF 活性を反映する Venus-AkaLuc 由来のシグナルとみなせることが明らかになったことを述べている。

第4章「HIF 活性を有する腫瘍内浸潤細胞の *in vivo* 光イメージング」では、HVA-Tg マウスで作製した担がんモデルにおいて、腫瘍内浸潤 HIF 活性化細胞の可視化が検討されている。乳がん細胞株 E0771 を用いた同所腫瘍モデル、肺がん細胞株 LLC を用いた皮下腫瘍モデルの *in vivo* 光イメージングにおいて、浸潤細胞によって形成される腫瘍内 HIF 活性化細胞を非侵襲的に可視化できたことが述べられている。さらに免疫組織化学的解析の結果、HIF 活性化細胞の腫瘍内局在は、大部分がマクロファージのマーカーである F4/80 陽性細胞の局在と重なったことを述べている。

第5章「HIF 活性を有する腫瘍内浸潤細胞の細胞種の解析」では、腫瘍内浸潤 HIF 活性化細胞の細胞種の解析が行われている。E0771 腫瘍内に浸潤している Venus-AkaLuc 陽性細胞集団を、フローサイトメーターを用いて解析した結果、腫瘍内浸潤 HIF 活性化細胞の大半は F4/80 陽性マクロファージであることが明らかになったことを述べられている。

第6章「研究の総括」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、HVA-Tg マウスを利用した腫瘍微小環境の全容解明や創薬応用について、今後の課題と展望を述べている。

これを要するに、腫瘍内に浸潤する HIF 活性化細胞の挙動を *in vivo* 光イメージングで解析する新規手法を開発したことは、腫瘍悪性化における腫瘍内浸潤 HIF 活性化細胞の機能を解明する研究や HIF 活性化細胞を標的とする創薬研究に新たな道を切り開くと考えられ、工学上並びに工業上貢献するところが大きい。よって、本論文は博士 (工学) の学位論文として十分価値があるものと認められる。