

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 宇 山 理 奈

乳腺腫瘍は雌犬および雌猫において非常に発生率の高い腫瘍のひとつであり、特に猫では臨床的に早期の癌でもすでに転移を起こすことがあるといわれる、極めて悪性度の高い腫瘍である。乳腺腫瘍の転移に関する基礎的研究は、人やマウス、ラット等に発生した乳腺腫瘍から樹立された培養細胞株を用い、細胞レベルを含めた様々な側面から行われてきた。しかし、人の本症と病態が類似し、そのモデルとして有用と考えられる犬、猫の本腫瘍から樹立された細胞株は必ずしも多くはない。

一方、カドヘリンおよびカテニンは、通常上皮細胞において細胞間接着および組織構築に重要な役割を演じている接着因子である。これらの因子は、癌の転移過程で最も重要な段階のひとつといわれる癌細胞の原発巣からの離脱と、標的臓器での再接着の局面に深く関与していると考えられている。

これらを背景に、第2章では犬および猫乳腺癌細胞株を臨床例から樹立した。樹立した犬乳腺癌細胞株は、同一症例の原発巣由来細胞株－転移巣由来細胞株が4対、合計8株であり、これらの細胞株はヌードマウスにおける転移能では原発－転移株間の差異は必ずしも明瞭ではないものの、これまでに90～160継代の培養が続けられている。猫乳腺癌細胞株は原発巣由来細胞5株、転移巣由来細胞3株の合計8株が樹立された。なお、このうち同一症例から原発－転移を対で樹立した細胞株は、2症例より計5株であった。これらもすでに40～150継代の培養が続けられており、いずれの株も安定した増殖を維持している。犬と猫の細胞の性質を比較すると、猫乳腺腫瘍ではきわめて高率に転移が起こるものの、猫乳腺癌細胞のヌードマウスへの皮下移植では、遠隔転移を起こす細胞株が犬株と比較して少なかった。しかし、これまでに犬および猫乳腺癌から原発－転移由来細胞が対で株化された報告はないことから、これらの細胞株が犬、猫乳腺癌の転移に関する研究において非常に貴重な材料になると考えられた。

第3章ではこれらの細胞株を用いてそれぞれの運動能を測定し、細胞の運動性と転移能との間の相関性を検討すると同時に、犬と猫の細胞間における差異についても検討した。その結果、犬細胞株、猫細胞株のいずれにおいても、運動能は原発巣／転移巣という由来に無関係に細胞によって大きく異なっており、由来組織による細胞運動能の差異は必ずしも明瞭ではなかった。一方、猫細胞株における運動能が犬細胞株に比べ低値を示したことは、猫細胞株のヌードマウスへの細胞移植による低い転移率の結果と関連するものと考えられた。

第4章では上皮系腫瘍の転移で最も重要な段階の一つである、癌細胞の原発巣からの離脱と、標的臓器での再接着に関わると考えられている、細胞－細胞間接着分子カドヘリンの発現および機能、ならびにカドヘリンの裏打ち蛋白である α 、 β 、 γ カテニンの発現を測定した。その結果、同一症例の原発－転移株間で比較した場合、犬、猫いずれの乳腺癌細胞においても、Eカドヘリン機能は原発株で弱く、転移

株でより強いことが認められた。このことは、原発巣におけるEカドヘリン機能の低下が細胞間接着能の減弱と関連しており、原発巣では癌細胞がより離脱しやすい状態であることを示唆すると考えられた。また逆に、転移株における高いEカドヘリン機能は、転移巣における癌細胞接着能の増強を示しており、これらの細胞が腫瘍組織塊の再形成に、より適した状態にあることが示唆された。

一方、 α 、 β 、 γ カテニンはEカドヘリンの細胞内ドメインと結合している裏打ち蛋白である。犬、猫乳腺癌細胞株におけるカテニン系の発現を測定した結果、犬乳腺癌細胞においては β カテニン欠損株が一株認められた。このような腫瘍細胞株は従来報告されておらず、これが初めての細胞株であった。一方、猫の乳腺癌細胞では、9株中7株において β および γ カテニンが欠損していることが認められた。このような β 、 γ カテニン両者の欠損は、 α カテニンがEカドヘリンに直接結合しているか、または β 、 γ カテニン以外の蛋白を介して結合していることを示唆しており、現在までにそのような結合を示す可能性を示唆する細胞は全く報告されていない。猫における高度な転移性には、これらカテニン系の異常が何らかの形で関連する可能性も考えられた。また、 α カテニン分子の欠損は、いずれの犬・猫乳腺癌細胞においても認められなかったことから、Eカドヘリン機能が α カテニンの発現の変化により制御されている可能性は示唆されなかった。

以上要するに、本研究は犬と猫の同一症例を含む乳腺癌症例の原発巣ならびに転移巣由来の細胞株を樹立し、その生物学的性状を明らかにして、今後の癌転移研究における有力な細胞を提供したことに加え、これらの細胞を用いた実験により、上皮系腫瘍の癌転移にもっとも関連の深い接着因子であるカドヘリン、カテニン系の本腫瘍転移への関与を示唆したものであり、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は本論文が博士（獣医学）の博士論文として価値あるものと認めた。