

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 高 橋 朋 子

イヌの肥満細胞腫は固形腫瘍として発現し、主として皮膚や皮下織に好発する。本腫瘍は発生部位により悪性度が大きく異なり、鼠径や会陰部、粘膜皮膚結合部に発生するものの悪性度は高い。一方、内臓に発生するきわめて悪性度の高いイヌ肥満細胞腫の存在が知られているが、臨床症状を含めてその詳細は明らかではない。本腫瘍はまた、きわめて高い浸潤能を示す。本腫瘍はしばしば周囲組織へ浸潤し、高率にリンパ行性転移を起こすことから、手術辺縁を大きく取って切除したときにもしばしば再発が認められる。このような発生部位による悪性度の差や強い局所浸潤能は、局所の周囲微小環境が関連すると思われる。肥満細胞は局所環境によって表現型が異なることが、すでにヒトや齧歯類でも知られており、イヌの本腫瘍における悪性度の差もその違いに基づく可能性が考えられるが、これらの点は、従来ほとんど検討されていない。

そこで本研究では第一に、従来報告が少なくその病態が明らかではない、内臓原発のイヌ肥満細胞腫に対するretrospective studyを行った。その結果、本症は小型純血種の雄における発生率が高く、臨床症状は非特異的であった。またその予後は、皮膚型本腫瘍と比較してもさらに悪く、初回来院から2カ月以内に全ての症例が死亡した。さらに一部の症例の組織では、ホルマリン固定により細胞内顆粒の異染性が消失したことから、内臓型本腫瘍は従来報告されている皮膚型とは異なる表現型を持つ可能性が示唆された。

第二に、イヌ皮膚型、内臓型肥満細胞腫からの細胞株樹立を試みた。その結果、それぞれから各1株を樹立することに成功した。これらに対し、皮膚型腫瘍由来の細胞株をTiMC、内臓型由来をLuMCと命名した。次にこれらの細胞の性質を、ヒトや齧歯類の肥満細胞に用いられている表現型分類法を参照して評価した。その結果、両細胞ともホルマリンに感受性で、ヘパリンを含有せず、tryptase、chymaseとも陽性であった。ヒスタミン放出試験では、両細胞で、カルシウムイオノフォアA23187およびサブスタンスPにより用量依存性のヒスタミン放出が見られた。またヒトIgEおよびイヌIgGを介して脱顆粒することが確かめられた。これらの結果から、イヌの肥満細胞腫細胞はヒトおよび齧歯類肥満細胞の表現型とは対応しないものの、由来組織によって異なる表現型を有し、かつ正常肥満細胞特有の生物学的性質を有していること、安定した増殖を示すこと、さらに高親和性IgGレセプターを有することが示されたことから、腫瘍の研究だけでなく、免疫応答におけるIgGの役割を解明するためにも有用な細胞と考えられた。

第三に、これらの樹立した細胞と北海道大学より供与された別の部位由来の細胞株（イヌ口腔肥満細胞腫由来CoMS）の合計3株の細胞を用い、本腫瘍の浸潤・転移に関わる因子と推測される、接着分子の

インテグリンおよび蛋白分解酵素の発現・機能について検討した。その結果、これらの細胞はいずれもインテグリン β 1鎖およびインテグリン α 1~5鎖をほぼ100%近く発現しており、またこれらの発現率は従来のヒト肥満細胞に比較してきわめて高い値であった。

さらに、各種細胞外基質 (ECM) への接着を検討した結果、各細胞によってECMへの接着性が異なり、これは由来する局所環境を反映していることによる可能性が考えられた。またフィブロネクチンへの接着はインテグリン α 5 β 1を、ラミニンへの接着はインテグリン β 1サブクラスをそれぞれ介することが明らかとなった。

蛋白分解酵素の発現・機能については、matrix metalloproteinase (MMP) の中でも基底膜分解に最も重要とされるゼラチナーゼ (MMP-2、9)、および肥満細胞が有する主要なセリンプロテアーゼである tryptase、chymase について検討を行った。その結果、いずれの細胞も MMP-9 前駆体と中間体、および MMP-2 前駆体として、恒常的にゼラチナーゼを産生した。細胞基底膜のモデルである Matrigel をコートしたチャンバーを用いた細胞浸潤能の検討では、いずれの細胞も Matrigel を分解して下室へ遊走し、この遊走は MMP 阻害剤である BB94 により阻害された。またいずれの細胞においても BB94 により、MMP-9 前駆体から中間体へのシフトが用量依存性に抑制されたことから、イヌ肥満細胞腫細胞の基底膜分解には MMP-9 が重要な役割を果たすものと推察された。しかし、各腫瘍細胞に発現するインテグリンを介したシグナル伝達による、MMP 発現の制御は確認されなかった。

以上要するに、本論文はきわめて高い浸潤能を示し、高度に悪性なイヌ肥満細胞腫の病態を調査し、さらに細胞株樹立によって正常肥満細胞の性質に基づく細胞学的特性を明らかにし、さらに本腫瘍の浸潤・転移機構の解明に一序を果たしたものであり、学術上、応用上貢献するところは少なくない。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があるものと認めた。