

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 桑 原 真 紀

悪性中皮腫は体腔漿膜を形成する中皮細胞を起源とする腫瘍で、発生頻度はいずれの動物種でも低く、また、その潜伏期は長い。しかし、いったん発症すると進行が迅速で、致死率が高く、現在も有効な治療法が見出されていない。ヒトでは疫学的に本腫瘍の発生とアスベスト吸入との関連が強く示唆されているが、本腫瘍の病理発生に関しては未だ不明である。一方で、中皮腫の効果的な治療法を確立するため、ヒト悪性中皮腫細胞株移植ヌードマウスモデルおよびアスベスト誘発げっ歯類悪性中皮腫モデルを用いた *in vivo* ないし *in vitro* の研究も行われつつある。こうした人為的モデルに加え、動物に自然発生した悪性腫瘍細胞の生物学的性状を調べることは、本腫瘍の基本的な病理発生の解明と治療法の開発上大いに意義あることと考えられる。

申請者は、老齢F344雄ラットに4%前後の頻度で中皮腫が自然発生することに着目し、この腫瘍から3種の細胞株を樹立した。これら細胞株の起源腫瘍は、2株が上皮型で、1株は上皮性増殖に加え紡錘形細胞の肉腫様増殖部分も観察され、継代中持続して二相性の増殖パターンを示した。これらの細胞株は、いずれも免疫組織化学的および電子顕微鏡学的に中皮由来を示唆する特徴を示した。これらいずれの細胞株も軟寒天培地でコロニーを形成し、また、同系統のラットに移植できた。さらに、低血清培養条件下でも増殖可能で、自律増殖を可能にする成長因子を自ら産生していることが示唆された。

次に、これらの細胞株を同系統ラットに移植して得た腫瘍を形態学的および免疫組織化学的に検索した。移植腫瘍は起源腫瘍と異なり、多様な形態像を示した。分離した細胞株は α -平滑筋アクチン (α -SMA) 陰性で、デスミン陽性であったが、移植腫瘍中の細胞はすべて起源腫瘍と同様 α -SMA陽性でデスミン陰性であった。以上のことからF344中皮腫細胞は培養環境によって多彩な分化能を示すことが示唆された。また、*in vivo* の微小環境因子が中皮腫細胞の分化能を修飾し、様々な形態的特徴を発現させるものと考えられた。

さらに腫瘍細胞の可移植性および軟寒天コロニー形成能に深く関わっている transforming growth factor (TGF)- β 1 と腫瘍細胞の増殖能との関連を調べた。細胞株培養上清中の TGF- β の生物活性はラット正常中皮細胞の30~70倍であった。TGF- β mRNA の発現量も腫瘍細胞で顕著に高かった。腫瘍細胞をアンチセンス TGF- β 1 オリゴヌクレオチドで処理すると、足場依存性および非依存性増殖がともに抑制された。また、外因性の TGF- β 1 は悪性中皮腫細胞株の増殖には影響を与えなかったが、休止状態の正常中皮細胞の増殖を軽度促進した。以上のことから、中皮腫の高い増殖活性は腫瘍細胞で産生された TGF- β 1 の autocrine 機構によるものと考えられた。

本研究で得られた中皮腫細胞株は、培養条件によく順応し、同系ラットに対する可移植性も高く、移

植によりヒト悪性中皮腫と類似した多様な形態像を示した。また、この細胞株は腫瘍の自律的増殖や活発な転移の要因と考えられているTGF- β 1を多量に産生した。本研究で樹立された中皮腫細胞株を用いて自然発生性中皮腫細胞の特性を解析し、アスベスト誘発性悪性中皮腫の特性と比較検討することにより、中皮腫の発生や増殖におけるアスベストの役割を解析でき、ひいては悪性中皮腫の有効な治療法の開発への貢献も期待できる。

この様に、本研究の成果は、中皮腫の基礎的な研究領域に重要な知見を加えるとともに、治療法の開発という応用面への展望を開くものとして、高く評価できる。従って、審査委員一同は本論文が博士（獣医学）の学位論文として価値あるものと認めた。