

審査の結果の要旨

氏名 大槻 祐頼

本研究は、腫瘍血管新生を標的とした新たな癌治療法の開発を目的とし、BALB/c マウスモデルを用いて内皮細胞ワクチンが癌転移の発育に及ぼす影響についての検討、また、腫瘍血管内皮細胞の分離法の確立を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. BALB/c マウス肝類洞内皮細胞 HSEs (hepatic sinusoidal endothelial cells) を同種内皮細胞ワクチンとし、ヒト臍帯静脈内皮細胞 HUVECs (human umbilical vein endothelial cells) を異種内皮細胞ワクチンとし、その抗腫瘍効果について BALB/c マウス大腸癌肺転移モデルにて検討した。その結果、いずれの上記内皮細胞ワクチンも大腸癌肺転移の発育を抑制するものの、同種の方が有意により強い抑制効果を示すことを確認した。
2. 内皮細胞ワクチンの投与による免疫反応の詳細について検討した結果、新生血管の内皮細胞を標的とする、液性免疫および細胞性免疫の誘導を認めた。すなわち、マウス血清中に内皮細胞と特異的に反応する抗体が出現し、また、脾臓組織中に内皮細胞に対する CTL が存在することを確認した。内皮細胞ワクチンによる液性免疫および細胞性免疫に関する *in vitro* の検討では、腫瘍細胞には影響を及ぼすことなく、内皮細胞のみを傷害したことから、*in vivo* における抗腫瘍効果は、新生血管に対する特異的な免疫反応の誘導によるものであると考えられた。

3. 上記結果より、臨床応用を考慮した場合、癌患者自身の内皮細胞、すなわち腫瘍血管内皮細胞を自己内皮細胞ワクチンとして使用する方法が最適と考えられた。しかし、腫瘍組織より内皮細胞を選択的に分離し得る簡便な方法が未だ確立していない現状であることから、より選択的な分離法について検討した。すなわち、マウス大腸癌組織より得られた細胞を Di1 標識 Ac-LDL および FITC 標識抗 CD16 抗体にてラベリングし、フローサイトメトリーにて解析した。その結果、マウス大腸癌組織には、内皮細胞と考えられる Ac-LDL (+) CD16 (-) 細胞分画、そしてマクロファージと考えられる Ac-LDL (+) CD16 (+) 細胞分画の存在が認められた。
4. セルソーターにて分離した Ac-LDL (+) CD16 (-) は、細長い紡錘状の形態を有し、ゼラチン上に全て付着し、内皮細胞の特徴であるマトリゲル上での管腔形成を示したことから腫瘍血管内皮細胞であると考えられた。同細胞は、マウス内皮細胞特異抗原である MECA32 を発現し、マクロファージ特異抗原である CD68 を発現しなかった。一方、Ac-LDL (+) CD16 (+) 細胞は、円形状の形態を有し、一部の細胞のみがゼラチン上に付着し、マトリゲル上でクラスターを形成したが管腔形成を示さず、腫瘍内マクロファージであると考えられた。同細胞は、CD68 を発現し、MECA32 を発現しなかった。腫瘍血管内皮細胞および腫瘍内マクロファージの割合は、腫瘍重量の増加に伴い増加しており、両者が腫瘍の発育に関与していることが推定された。

以上、本論文は Balb/c マウス腫瘍モデルにおいて同種内皮細胞ワクチンによる抗腫瘍効果を明らかにした。また、従来法に比べ、より選択的な腫瘍血管内皮細胞の分離法を確立した。すなわち、本研究は、腫瘍血管新生を標的とした癌治療法の可能性を拡大し、癌治療法の開発に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。