

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 李 秀貞

---

血管新生やリンパ管新生は癌の増殖と転移を促進させる重要な要因であり、そこには血管内皮増殖因子(VEGF)が深く関与する。現在までに、人の乳癌、大腸癌、胃癌、肺癌などにおいて、VEGF の過剰発現が腫瘍の血管、リンパ管増生や転移と関連し、腫瘍の悪性度や予後因子になることが報告されている。

犬の乳腺腫瘍は雌犬で最も多い腫瘍であり、その約50%が悪性である。本腫瘍ではしばしば転移が見られるが、転移や悪性度と血管新生、リンパ管新生との関連や予後との関連についてはほとんど研究されていない。

そこで本研究では、実際の症例犬から抽出した犬の乳腺腫瘍組織および犬の乳腺腫瘍細胞株のヌードマウス移植モデルを用い、本腫瘍における VEGF-A や VEGF-C の発現と腫瘍の悪性度や転移との関連、ならびにそれらと血管新生やリンパ管新生との関連について検討した。

序論に続き、第 1 章では、犬乳腺腫瘍組織における VEGF-A および VEGF-C の発現と悪性度の関係について、25 症例から外科的に抽出した原発病巣(n=49)と正常犬の乳腺組織(n=5)における VEGF-A と VEGF-C の発現を免疫組織化学によって検討した。さらに、Ki-67 陽性細胞数から算出した腫瘍増殖率(PI)も測定し、これらの発現との関係を調べた。その結果、乳腺癌組織では、正常乳腺組織や良性腫瘍と比較して有意に高い VEGF-A の発現と PI が見られた。また、VEGF-A の高発現組織を有する症例では生存率が有意に短かった。一方、VEGF-C の発現は組織の悪性度、PI 値、予後と関連しなかったが、腫瘍発生初期に有意に高い発現が見られた。

そこで第 2 章では、2 つの犬乳腺腫瘍細胞株(CHMp-5b, CHMp-13a)のヌードマウス移植モデルを用い、VEGF 発現と血管新生、リンパ管新生との関連を検討した。

まず、実験 1 として、両細胞の VEGF-A と VEGF-C の mRNA とタンパク質の発現を検討した結果、両細胞株とも VEGF-A および VEGF-C を発現したが、そのレベルは VEGF-A が VEGF-C よりはるかに高かった。

次に実験 2 として、CHMp-5b と CHMp-13a 移植マウスモデルを作製し、移植後 6 週まで経時的に観察した。その結果、CHMp-5b 移植群では CHMp-13a 移植群と比較して原発巣の PI が有意に高く、かつリンパ節や肺への転移がより多く認められたことから、本細胞がより高

い悪性度を持つと考えられた。

実験 3 では、本マウス移植モデルの原発巣や転移巣組織における VEGF-A と VEGF-C の発現を調べた。その結果、原発巣にはいずれも VEGF-A および VEGF-C mRNA 発現したが、そのレベルは両細胞における発現パターンと同様、VEGF-C より VEGF-A がはるかに高かった。免疫組織化学では、VEGF-A と VEGF-C の発現は腫瘍増殖能と相関する傾向にあり、経時間的な増加を示した。

実験 4 では、マウス移植モデルの原発巣や転移巣における血管新生（マーカーは CD31）とリンパ管新生（マーカーは LYVE1）の経時的变化を調べ、VEGF 発現との関連を検討した。その結果、CHMp-5b 移植群では、CHMp-13a 移植群に比較し、原発巣において有意に高い腫瘍内部の血管新生および腫瘍周囲のリンパ管新生が認められた。また、原発巣の VEGF-A の発現と腫瘍内部や周囲の血管新生ならびに腫瘍周囲のリンパ管新生との間に有意な正の相関関係が認められた。さらに、これらの移植群では、肺転移が見られる前に既にリンパ管新生が増加し、これが原発巣の VEGF-A、-C 発現と相関することから、これらが転移促進に関与する可能性が示唆された。一方、CHMp-13a 移植群では原発巣の VEGF-A と VEGF -C の発現と腫瘍周囲の血管新生やリンパ管新生との間に有意な相関関係が見られた。

以上の成績から、犬の乳腺腫瘍では VEGF-A は組織学的悪性度の高い乳腺癌により高く発現し、かつ増殖能や予後と関連すると考えられた。さらにマウスモデルでは、VEGF-A の発現が腫瘍の血管ならびにリンパ管新生と有意に相関した。これらの結果は、VEGF-A が血管やリンパ管新生を介して腫瘍増殖や転移に寄与し、さらに VEGF-A が本症の有力な予後判定指標になりうることを示唆した。VEGF-C に関しては腫瘍発生初期ならびに転移との関連を追及する価値があると考えられた。

以上要するに、本論文は犬の乳腺腫瘍における VEGF の発現が血管新生やリンパ管新生を介して悪性度や転移に関与し、予後の指標となることを示したものであり、学術上、臨床上その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）の学位論文として価値あるものと認めた。