

氏名(本籍)	みよしちか 三好千香(茨城県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博甲第3197号
学位授与年月日	平成15年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	医学研究科
学位論文題目	腫瘍の新生血管における微小循環動態の特異性
主査	筑波大学教授 薬学博士 後藤 勝年
副査	筑波大学教授 医学博士 山口 巖
副査	筑波大学助教授 医学博士 鬼塚 正孝

## 論文の内容の要旨

### (目的)

腫瘍による血管新生が腫瘍の増殖や転移に関わっていることが、最近注目を集めている。本研究では、腫瘍モデル動物を作製し、血管新生の過程を定量的に解析すると同時に、腫瘍に特異的な微小循環の変化を経時的に解析することを試みた。また、微小循環の調節という新たなコンセプトに基づいて抗腫瘍薬を開発することを念頭に、腫瘍組織における微小循環動態の変化を詳細に解析することを目的とした。さらに、白血球の組織への浸潤を促進することによって免疫系の賦活を図ることが腫瘍の抑制につながるか否かも検討した。

### (対象と方法)

Fischer 344 ラットの腹腔内に腫瘍細胞(RCN-9)を播種することによる腹腔播種性腫瘍モデルを作製し、腸間膜を露出・保温してリアルタイム共焦点レーザー走査型顕微鏡システムを用いて微小循環系を観察した。血管内皮細胞増殖因子(VEGF)の発現は、免疫組織化学的方法により観察した。血漿成分を染色して微小血管造影を行い、血管径や腫瘍の3次元的な血管構築を可視化した。標識しておいた赤血球を経頸静脈的に投与し、その流れを可視化して流れの方向や血流速度を測定した。励起波長の異なる色素で白血球を染色し、内皮細胞との相互作用を観察した。一酸化窒素(NO)の産生部位は、NO感受性色素を用いて可視化すると共に、その血球挙動に及ぼす影響を検討した。

### (結果)

腫瘍細胞は、腹水中にVEGFを分泌すると共に、腸間膜上で顕著な血管新生を伴って増殖した。腹水中のVEGFの濃度も経時的に増加し、血管構築との間に強い相関がみられた。腫瘍組織内部での血管では、血流速度の減少と共に白血球と内皮細胞との相互作用が顕著に減少しているのが観察された。これらは、NO合成阻害薬により正常組織におけるレベルまで回復した。NOの産生部位は正常ラットの腸間膜微小血管床では内皮細胞及び腸間膜に浸潤したマクロファージに局限していたが、腫瘍モデルにおいては新生血管の内腔には殆どみられず、腫瘍細胞及びストローマ細胞を含めた腫瘍組織に認められた。NO合成阻害薬を持続的に腹腔内投与することにより、血管新生と共に腫瘍の増殖も著明に抑制された。

#### (考察)

本研究において、腫瘍組織において新生した微小血管における血流動態、特に白血球の挙動に内皮細胞への接着性の低下という特異性が見出された。白血球・内皮細胞相互作用は、白血球の組織への侵襲の前提となる現象であり、血管外における白血球の免疫応答の最初のステップである。従って、腫瘍組織由来のNOによって白血球の接着性が低下し、白血球が本来は血管外の組織で果たすべき免疫応答が抑制されていることが示唆された。腫瘍における血管新生は、免疫系等による基本的なホメオスタシス維持機構のバランスが乱された状態を反映するものであると考えられる。

#### 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、ラットの腹腔内に腫瘍細胞を播種して作製した腸間膜上の腫瘍モデルを用い、腫瘍組織深部の微小血管も可視化したリアルタイム共焦点レーザー走査型顕微鏡システムを用いて微小循環動態を解析したものである。腫瘍細胞から分泌される血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) の量の増加とともに腫瘍も増殖し、腫瘍組織内の新生血管への白血球の接着性が低下しているのが認められた。腫瘍細胞は一酸化窒素 (NO) の合成能が高く、NO合成阻害薬処置によって上記の一連の変化が著明に抑制されることを見出している。従って、血管新生は、腫瘍細胞から産生されるNOによって白血球の血管内皮細胞への接着が抑えられ、白血球の血管外への浸潤が減少することにより、本来は腫瘍抑制的に働いていると考えられる免疫系の反応が抑制されている状態を反映しているものと解釈される。本研究成果は、微小循環動態を修飾することによる新しい抗腫瘍療法開発の可能性を示唆するものであり、高く評価される。

よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。