




学位論文審査の結果の要旨

審査区分 (課)・論	第 号	氏 名	阿部 博和
審 査 委 員 会 委 員		主査氏名	樋口 あき 
		副査氏名	白尾 国昭 
		副査氏名	村上 和成 
<p>論文題目：Role of the CXCL12/CXCR4 axis in milky spots of rats bearing ascitic-type hepatoma.</p> <p>論文掲載誌名： Anatomical Science International</p> <p>論文要旨</p> <p>腫瘍細胞の腹腔内播種転移に際し、腫瘍細胞膜表面にケモカインレセプター (CXCR4 など) が発現し、大網乳斑に転移することが知られている。腫瘍細胞膜表面のケモカインレセプターと組織構成細胞のケモカイン (CXCL12 など) が結合し、腫瘍細胞の転移が起こると考えられている。ラット腹水型肝癌細胞の AH7974 は、その細胞膜表面に CXCR4 を発現しており、この細胞をラットの腹腔内に移植すると、最初に大網乳斑に転移を起こす。そこで、CXCR4 のアンタゴニストである AMD3100 を腹腔内投与することにより、腫瘍細胞の乳斑への転移が抑制されるか否かを調べ、さらに腫瘍細胞がなぜ乳斑に最初に浸潤するかを検討した。【方法】6～8週齢の雄性SD系ラットを以下の3群に分けて実験した。AH7974 細胞を腹腔内に投与して、3日後に屠殺した「AH」群、AH7974 細胞を腹腔内に投与し、同時に、1日後、及び2日後にAMD3100 を腹腔内に投与した「AMD」群、生理食塩水を腹腔内に注入し、3日後に屠殺した群を「CONT」群とした。これら3群から摘出した大網を、アルカリフオスファターゼ (AP) 染色で乳斑の面積の比較を、抗 CXCR4 抗体と抗 CXCL12 抗体を用いた免疫組織化学染色で各分子の発現を、電子顕微鏡で超微形態学的変化を観察した。さらに、GFP 発現 AH7974 細胞を作製し、移植後の細胞を追跡した。【結果】AP 染色による乳斑の面積の比較では、「AH」群は「CONT」群に比べて有意に肥大し、「AMD」群の乳斑は「AH」群の乳斑に比べて縮小していた。組織学的所見でも、「AH」群の乳斑に比して「AMD」群の乳斑の縮小が観察された。免疫組織染色において、「AH」群の AH7974 細胞膜表面に CXCR4 の発現が、また、同群乳斑の血管内皮細胞に CXCL12 の発現が認められた。電子顕微鏡観察において、「AH」群では乳斑内毛細血管内皮細胞の分裂像が認められ、好酸球と肥満細胞の接触像も観察された。GFP 発現腫瘍細胞移植実験では、移植3日後に乳斑内毛細血管中に同腫瘍細胞が認められた。【考察】乳斑表層には基底膜を欠く小孔が存在すると言われているが、腫瘍細胞は、この小孔を通して中皮細胞下の乳斑に侵入するのではないと思われる。AH7974 細胞には CXCR4 が強く発現されており、「AH」群における乳斑内毛細血管内皮細胞壁には他群に比べ CXCL12 が豊富に存在することで、腫瘍細胞が組織内に引き寄せられたと考えられる。また、「AH」群乳斑内では毛細血管が新生され、組織切片上でも単位面積当たりの数も増えており、これも腫瘍転移に一役を担っていると思われる。【結語】CXCR4 と CXCL12 の両分子は腫瘍細胞の乳斑への浸潤に密接に関係しており、AMD3100 には腫瘍細胞の乳斑への浸潤を抑制する作用が明らかになった。</p> <p>本研究は、CXCR4 と CXCL12 の両分子は腫瘍細胞の乳斑への浸潤に密接に関係しており、AMD3100 には腫瘍細胞の乳斑への浸潤を抑制することで、新しい治療薬の可能性を示唆した意義ある研究であり、審査委員の合議により本論文は学位論文に値するものと判定した。</p>			

## 学 位 論 文 要 旨

氏名 阿部博和

## 論 文 題 目

Role of the CXCL12/CXCR4 axis in milky spots of rats  
bearing ascitic-type hepatoma.

(ラット肝癌細胞の腹腔転移におけるCXCR4および  
CXCL12の役割)

## 要 旨

## ア、背景と目的

腫瘍細胞は、腹腔内に播種転移するとき、まず、腫瘍細胞の膜表面にケモカインレセプター (CXCR4 など) が発現され、大網乳斑に転移することが知られている。そして、腫瘍細胞の膜表面のケモカインレセプターと組織の構成細胞のケモカイン (CXCL12 など) が鍵と鍵穴の関係により、腫瘍細胞の転移が起こるものと考えられている。ラット腹水型肝癌細胞の AH7974 は、その細胞膜表面に CXCR4 を発現しており、この細胞をラットの腹腔内に移植すると、まず、はじめに大網乳斑に転移を起こす。そこで、CXCR4 のアンタゴニストである AMD3100 を腹腔内に投与することにより、腫瘍細胞の乳斑への転移が抑制され

るのかどうかを調べ、腫瘍細胞がなぜ乳斑に最初に浸潤するのかを明らかにする。

#### イ、 研究対象及び方法 (材料を含む)

実験動物は、6～8週齢の雄性SD系ラットを用いた。これを3群に分けて、AH7974細胞を腹腔内に投与して、3日後に屠殺した群を「AH」群、AH7974細胞を腹腔内に投与し、同時に、1日後、及び2日後にAMD3100を腹腔内に投与した群を「AMD」群、生理食塩水を腹腔内に注入して、3日後に屠殺した群を「CONT」群とした。これら3群から摘出した大網を、アルカリフォスファターゼ染色で乳斑の面積の比較を、抗CXCR4抗体、抗CXCL12抗体を用いた免疫組織化学染色で各分子の発現を、TEMで超微形態学的変化を調べた。また、GFP発現AH7974細胞を作成し、移植を行いその細胞を追跡した。

#### ウ、 結果

アルカリフォスファターゼ染色による乳斑の面積の比較を行うと、有意に「AH」群の乳斑は、「CONT」群に比べて、肥大し、「AMD」群の乳斑は、「AH」群の乳斑に比べて、縮小していた。組織学的所見でも、「AH」群の乳斑に比して、「AMD」群の乳斑が縮小しているのが示された。免疫組織染色において、「AH」群のAH7974細胞膜表面にCXCR4の発現が、また、同群乳斑の血管内皮細胞にCXCL12の発現が見られた。電子顕微鏡観察において、腹腔内壁は、一層の中皮細胞に覆われているが、乳斑の表面には小孔が存在しており、この小孔には、基底膜が欠けていた。また、「AH」群では、乳斑内毛細血管内皮細胞の分裂像が認められた。また、好酸球と肥満細胞の接触像も観察された。GFP発現腫瘍細胞移植実験では、移植3日後に、乳斑内毛細血管中に同腫瘍細胞が認められた。

## エ、考察

乳斑の表面には小孔が存在しており、この小孔には、基底膜が欠けていた。

腫瘍細胞は、この小孔を通して、中皮細胞下の乳斑に侵入するのではないかと

考えた。AH7974 細胞には CXCR4 が強く発現されており、「AH」群における

乳斑内毛細血管内皮細胞壁には他群に比べ、CXCL12 が豊富に存在し、よって

腫瘍細胞が、組織内に引き寄せられると考えられる。「AH」群乳斑内では毛細

血管が新生され、組織切片上でも単位面積当たりの数も増えており、これも腫

瘍転移に一役を担っていると考えた。

## オ、結語 (まとめ)

CXCR4 と CXCL12 の両分子は、腫瘍細胞の乳斑への浸潤に密接に関係してお

り、AMD3100 は、腫瘍細胞の乳斑への浸潤を抑制する働きのあることが明らか

になった。