

氏名(生年月日)	アオ 青 鹿 佳 和
本 籍	
学位の種類	博士(医学)
学位授与の番号	乙第 2274 号
学位授与の日付	平成 16 年 9 月 17 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当(博士の学位論文提出者)
学位論文題目	<b>The embryonic angiogenic factor Del1 accelerates tumor growth by enhancing vascular formation</b> (胎児性血管新生促進因子 Del1 は腫瘍内血管新生を促進することにより腫瘍の増大を促進する)
主論文公表誌	Microvascular Research 第 64 巻 第 1 号 148-161 頁 2002 年
論文審査委員	(主査) 教授 笠貫 宏 (副査) 教授 岩本 安彦, 大貫 恭正

## 論文内容の要旨

### 〔目的〕

Stanford 大学の Quertermous 研究室で、胎生期にのみ血管内皮細胞に発現する細胞外基質蛋白が発見され、Del 1 (developmental endothelial locus 1) と命名された。その発現パターンから胎生期の血管新生に何らかの重要な役割を果たすものと考えられたが、その生体内作用は不明である。本研究では、分子生物学的手法を用いて、その生体内作用を検討した。

### 〔対象および方法〕

元来 Del 1 を発現していない腫瘍細胞(ヒト骨肉腫細胞, マウス肺癌細胞)に Del 1 cDNA を遺伝子導入して Del 1 を強制発現させ、ヌードマウス皮下に接種し、その後の腫瘍の増大速度を測定した。腫瘍内の血管密度や腫瘍細胞のアポトーシス, 細胞増殖などにつき検討した。また、様々な腫瘍組織における Del 1 発現の有無を、免疫組織染色法を用いて検討した。

### 〔結果〕

Del 1 を過剰発現させた腫瘍の増大速度は、野生型のそれに比べ、Del 1 の発現量に比例して有意に大であった。In vitro では、Del 1 は腫瘍細胞および血管内皮細胞の増殖、アポトーシスに影響は及ぼさなかったが、in vivo (腫瘍組織内)で、細胞増殖に有意差は認めないものの、アポトーシス細胞の割合が Del 1 過剰発現腫瘍内において野生型に比べ有意に少であった。また、抗 CD31 抗体を用いた免疫組織染色の結果、Del 1 過剰発現腫瘍組織内の血管密度は、コントロールと比べ 2~4 倍に増加していた。

次にいくつかの腫瘍組織における Del 1 の発現を免疫組織染色で検討した。その結果、皮膚基底細胞癌と星状細胞癌組織において Del 1 が腫瘍細胞自体および間質に染色された。また、抗 vWF 抗体と抗 Del 1 抗体を用いた二重免疫蛍光組織染色による検討で、正常乳腺組織では Del 1 の発現は認められないが、乳癌、黒色腫、大腸癌の各組織において、腫瘍間質と血管内皮細胞に Del 1 が染色された。

### 〔考察〕

一連の実験結果から、Del 1 が腫瘍内において新生血管を誘導し、豊富な血流が腫瘍細胞のアポトーシスを減少させたため、Del 1 過剰発現腫瘍の増大速度が有意に速まったと推測した。また Del 1 が新生血管を誘導する機序としては、Del 1 はインテグリン  $\alpha\beta 3$  を介して、血管内皮細胞の接着および遊走に関与することが報告されており、腫瘍内においてもオートクリン、パラクリンの機序で、血管内皮細胞の遊走を促すとともに、血管内皮細胞に足場を提供、インテグリン  $\alpha\beta 3$  受容体を介して血管内皮細胞の生存を促す結果と考えた。

## 〔結論〕

Del 1 が腫瘍内においては、血管新生促進因子として作用することを明らかにした。また Del 1 が一部の腫瘍において腫瘍細胞および血管内皮細胞から再発現されることが確認され、腫瘍血管の増生および腫瘍増大において重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

## 論 文 審 査 の 要 旨

Del 1 (developmental endothelial locus 1) は Quetermous らにより胎生期にのみ血管内皮細胞が発現する細胞外基質蛋白として発見されたが、その生体内作用は不明である。本研究は、分子生物学的手法を用いて、その生体内作用を検討した。

腫瘍細胞 (ヒト骨肉腫細胞, マウス肺癌細胞) に Del 1 cDNA を遺伝子導入して Del 1 を強制発現させ、ヌードマウス皮下に接種した。その後の腫瘍の増大速度は野生型のそれに比べ、Del 1 の発現量に比例して有意に大であった。免疫組織染色では、Del 1 過剰発現腫瘍組織内の血管密度は増加し、皮膚基底細胞癌と星状細胞癌組織において Del 1 が腫瘍細胞自体および間質に染色された。

従って、本論文は Del 1 が腫瘍内においては、血管新生促進因子として作用することを明らかにし、また Del 1 が一部の腫瘍において腫瘍細胞および血管内皮細胞から再発現されることを確認し、腫瘍血管の増生および腫瘍増大において重要な役割を果たしている可能性を示した医学的に極めて意義の高い研究である。