

Title	唾液腺腺様嚢胞癌の血管に関する研究
Author(s)	藤田, 源太郎
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/57595
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

[8]

氏 名	藤 田 源 太 郎
博士の専攻分野の名称	博 士 (歯 学)
学 位 記 番 号	第 2 3 7 2 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 22 年 3 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 歯学研究科統合機能口腔科学専攻
学 位 論 文 名	唾液腺腺様嚢胞癌の血管に関する研究
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 由良 義明 (副査) 教 授 阪井 丘芳 准教授 小川 裕三 講 師 福田 康夫

論文内容の要旨

【緒言】

腺様嚢胞癌 (ACC) の増殖は緩慢であるが高頻度に局所再発と遠隔転移を起こす。これと化学療法や放射線療法に対する感受性の低さが相俟って予後は極めて不良である。血管は遠隔転移と化学療法や放射線療法の有効性を規定することから、ACC の予後の改善には血管の情報が不可欠である。

本研究は ACC の血管の特徴と関連する血管形成因子を明らかにする目的で行われた。このために臨床材料と動物モデルを用いて組織学的ならびに分子生物学的に ACC の血管と血管形成因子を調べた。

【材料と方法】

1. 臨床材料

本学口腔外科の ACC 症例のうち化学療法と放射線療法を施していないもの (ホルマリン固定パラフィン包埋標本 29 例、未固定凍結標本 8 例) と組織学的に異常のない唾液腺 (NSG; ホルマリン固定パラフィン包埋標本 15 例、未固定凍結標本 7 例) を用いた。

2. 動物モデル

ACC の新鮮組織を約 1mm³ 大の細片にし、ヌードマウス (雄、8 週齢) の顎下腺に 1 個移植した。2 ヶ月後唾液腺を摘出しパラフィン包埋標本と未固定凍結標本とした。

3. 組織学的検討

パラフィン包埋標本から連続切片を作製し、免疫組織化学染色により CD31、Ki67、 α SMA、VEGF-A、Ang-1、Ang-2、VEGFR-2 を、TUNEL 染色によりアポトーシスを、in situ hybridization (ISH) によりヒト DNA を検出した。

染色を施した切片は顕微鏡で 100 倍に拡大して血管の多い部位を選択した。次に 400 倍に拡大し、選択した部位から合計 10 視野を撮影した。撮影した画像から以下の値を算出した。

①血管密度: 各視野の CD31 陽性の血管を数え、最も多い値を血管密度とした。②増殖血管率: 各視野の CD31 陽性血管のうち Ki67 陽性内皮細胞をもつものの割合を算出し、平均値を増殖血管率とした。③血管周皮細胞被覆率: 各視野の CD31 陽性血管のうち α SMA 陽性周皮細胞を持つものの割合を算出し、平均値を血管周皮細胞被覆率とした。

4. 分子生物学的検討

未固定凍結標本から凍結切片を作製し、必要部分を切り取り RNA を抽出した。cDNA を合成し VEGF-A、Ang-1、Ang-2、VEGFR-2、Tie-2 に特異的なプライマーを用いて PCR を行った。血管形成因子については real-time PCR を行い mRNA の発現量も算出した。

5. 統計分析

算出された値は平均値 \pm 標準誤差で表した。値の比較には Mann-Whitney の U 検定を行った。

【結果と考察】

1. 臨床材料

血管密度は ACC 17.2 \pm 1.4、NSG 24.1 \pm 1.3、増殖血管率は ACC 3.3 \pm 0.7%、NSG 0%、血管周皮細胞被覆率は ACC 39.7 \pm 3.6%、NSG 81.5 \pm 2.0% (以上すべて $p < 0.01$) であった。TUNEL 陽性の内皮細胞は ACC で稀にみられた。

ACC と NSG は VEGF-A、Ang-1、Ang-2、VEGFR-2、Tie-2 を発現していた。血管形成因子の発現量は VEGF-A は ACC は NSG と同程度、Ang-1/Ang-2 は ACC は NSG の 1/6 ($p < 0.01$) であった。腫瘍の実質と間質は共に VEGF-A、Ang-1、Ang-2、VEGFR-2 を発現していたが、実質は Tie-2 を発現していなかった。

以上の結果から ACC の血管は量よりも質 (構造) の異常が特徴で、周皮細胞が脱落した血管であることが示された。これは Ang-1 のアンタゴニストである Ang-2 の過剰発現によって内皮細胞における Ang-1/Tie-2 の結合が阻害されることに起因すると考えられる。さらに周皮細胞の被覆を欠く不安定な内皮細胞は VEGF-A によってアポトーシスを免れると考えられる。構造に異常を来たした血管は腫瘍細胞の遠隔転移を容易にすると共に薬剤や酸素の供給に影響して化学療法や放射線療法の効果を損なうと思われる。

2. 動物モデル

ヌードマウスの腫瘍は唾液腺内に限局し肉眼的には明らかな遠隔転移はみられなかった。組織学的には移植前の原腫瘍と同様に管状/篩状型の組織型を示して周囲の唾液腺に浸潤性に増殖していた。腫瘍細胞の Ki67 陽性率は 6.2% で原腫瘍の 5.1% に類似していた。ISH では腫瘍実質はヒトのものであるのに対し間質はマウスのものであった。

血管密度は腫瘍 10.2 \pm 0.9、顎下腺 24.2 \pm 2.8、増殖血管率は腫瘍 1.1 \pm 0.7%、顎下腺 0%、血管周皮細胞被覆率は腫瘍 38.8 \pm 2.5%、顎下腺 87.2 \pm 4.0% (以上すべて $P < 0.01$) であった。腫瘍、顎下腺共に TUNEL 陽性の内皮細胞を認めなかった。

血管形成因子と受容体は顎下腺ではすべてを発現していたのに対し、腫瘍は Ang-1 を発現していなかった。腫瘍の VEGF-A の発現量は顎下腺の 1/30 であった ($P < 0.05$)。

以上の結果からヌードマウスのモデルは初期の病期の ACC を再現しており、臨床材料から得られた結果の妥当性を支持するものと考えられる。

【結論】

ACC の血管は周皮細胞の脱落した構造の異常が特徴であり、これには Ang-2 と VEGF-A が関係している。血管の構造異常によって ACC では遠隔転移が生じやすく化学療法や放射線療法に対する感受性が低くなると思われる。

論文審査の結果の要旨

唾液腺腺様嚢胞癌の臨床材料と動物モデルを調べることで、血管は周皮細胞が脱落した構造の異常を特徴とすることが明らかになった。さらに血管の異常は Angiopoietin-2 と VEGF-A の発現によって生じることが示唆された。このような血管の構造異常は腫瘍の遠隔転移を容易にして、同時に化学療法と放射線療法の効果を損なうものと考えられる。

以上の結果は、腺様嚢胞癌患者の予後の改善につながる新たな治療法の創出に大

いに貢献するものである。よって博士（歯学）の学位を授与するに値するものと認める。