

指 導 教 授 氏 名	指 導 役 割
長塚仁 印	実験計画の立案、実験、評価の指導
印	
印	

## 学 位 論 文 要 旨

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科

専攻分野 口腔病理学	身分 大学院生	氏名 河合 穂高
論文題名 GFP骨髄移植マウスを用いた腫瘍間質における骨髄由来細胞の動態と役割		
論文内容の要旨（2000字程度）		
<p><b>【目的】</b> 腫瘍組織は腫瘍細胞と、腫瘍細胞以外の腫瘍間質細胞で構成されている。特に悪性腫瘍組織を構成する腫瘍間質細胞は癌間質細胞と呼称され、腫瘍微小環境を形成して、腫瘍細胞との相互作用を行い腫瘍の浸潤性や転移に影響を与えることが明らかとなってきた。腫瘍間質は線維芽細胞や炎症細胞、血管など多彩な細胞で構成されているが、一部は骨髄由来であることが指摘されている。骨髄由来細胞(Bone marrow derived cell: BMDC)は血球系細胞のみならず、様々な細胞に分化することが知られており、肝臓、肺、腸管など全身の臓器に造血幹細胞由来の細胞が出現することや、BMDC が遠隔の臓器の組織再生や創傷治癒に関与していると報告されている。しかし、腫瘍間質での BMDC の動態は不明な点が多い。本研究では、BMDC の腫瘍の浸潤性や転移能への関与を明らかにするため、GFP 骨髄移植マウスに腫瘍を移植し、腫瘍間質における BMDC の動態を検討した。</p> <p><b>【材料および方法】</b> GFP マウス(C57BL/6-Tg(CAG-EGFP)、8 週齢)から骨髄を採取し、放射線照射(総量 10Gy)を行った野生型マウス(C57BL/6J、8 週齢)に骨髄移植を施行し、骨髄細胞のみ GFP 陽性のキメラマウスを作製した。同マウスに Lewis Lung Cancer 細胞を、背部皮下または尾静脈より移植し、前者を原発モデル、後者を転移モデルとした。腫瘍移植 4 週後に腫瘍組織を摘出し、パラフィン包埋連続切片を作製した。標本は病理組織学的に検討し、免疫組織化学的(IHC)に GFP 陽性細胞の局在を検討した。<math>\alpha</math>-SMA、CD3、CD11b、CD31、CD34、CD105 陽性細胞の局在を GFP 陽性細胞と併せて比較検討した。また、GFP と CD11b、CD31、CD105 については蛍光免疫二重染色を行い検討した。</p> <p><b>【結果】</b> HE 染色では、原発モデルの腫瘍組織辺縁部(Peripheral area: PA)と、腫瘍組織中心部(Central area: CA)では、腫瘍細胞の形態が異なり、PA では腫瘍細胞の密な増殖と紡錘形細胞が多く、CA では細胞間隙の目立つ類円形細胞が主体であった。転移モデルの肺における腫瘍組織(Metastatic area: MA)では、腫瘍細胞は PA と類似した像であった。IHC では、腫瘍間質に球形、樹状形の GFP 陽性細胞が確認されたが、CA に比べ PA や MA で有意な GFP 陽性細胞の分布がみられた。免疫組織化学染色では、<math>\alpha</math>-SMA は血管周囲平滑筋や PA の紡錘形細胞に、CD3 は小型の球形の細胞に陽性像がみられたが、GFP 陽性細胞の分布と相関はみられなかった。CD11b は腫瘍組織内の球形、樹状形の細胞に陽性像が見られた。これらの細胞の多くは GFP 陽性で、壊死巣を中心に集簇像が観察され、腫瘍組織内にも多数の陽性像を認めた。CD31、CD34、CD105 の免疫組織化学染色では、腫瘍組織内の管状もしくはスリット状の構造をとる血管内皮細胞に陽性像を認めた。また、CD31 にのみ腫瘍組織内の球形、もしくは樹状形の細胞に陽性像が観察された。これらの細胞は PA、MA で CA に比べ有意に集簇しており、GFP 陽性細胞の局在と相関がみられた。腫瘍組織内</p>		

論文内容の要旨（2000字程度）

の血管面積を計測し、各領域で比較したところ、PA、MAの血管面積は、CAに比べ有意に広がった。蛍光免疫二重染色による検討では、CD31もしくはCD105陽性の血管内皮細胞はGFP陰性であった。CD31陽性の球形、もしくは樹状形の細胞は、CD105陰性、GFP陽性の細胞であった。

【考察】

腫瘍間質には多数のBMDCが存在し、腫瘍の部位により局在が異なることが示された。 $\alpha$ -SMA陽性の紡錘形細胞は筋線維芽細胞と考えられた。細胞形態や染色態度から癌間質細胞のCAF (cancer associated fibroblast)である可能性が示唆された。CD3は小型の炎症細胞でT細胞と考えられた。壊死巣周囲で見られたCD11b陽性細胞は壊死物を貪食するマクロファージと考えられたが、腫瘍組織内に存在するCD11b陽性細胞の一部は腫瘍の浸潤や転移への関与が報告されている腫瘍随伴マクロファージの可能性が示唆された。CD31、CD34、CD105陽性の細胞は血管内皮細胞であったが、CD31陽性の球形、樹状形の細胞は血管内皮細胞とは異なる細胞と考えられた。CAFや血管内皮細胞はGFP陰性で骨髄以外の由来と考えられた。CD31陽性の球形、樹状形の細胞はGFP陽性で骨髄由来であり、CD31陽性BMDCは、PA、MAで多く集簇していることから腫瘍の浸潤や転移に関与するBMDCである可能性が示唆された。

(1935字)