

氏 名	かわ だ けん じ 河 田 健 二
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2823 号
学位授与の日付	平成 17 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	医学研究科外科系専攻
学位論文題目	Pivotal role of CXCR3 in melanoma cell metastasis to lymph nodes (メラノーマ細胞のリンパ節転移における CXCR3 の主要な役割について)
論文調査委員	(主 査) 教授 長 澤 丘 司 教授 内 山 卓 教授 宮 地 良 樹

論 文 内 容 の 要 旨

ケモカインとその受容体は白血球の体内循環に重要な役割を果たすとともに、癌細胞の臓器特異的な転移にも関与していることが、特に CXCR4 や CCR7 らの受容体について近年報告されてきている。一方 CXCR3 についてはメラノーマ、リンパ腫、乳癌などの癌で発現していることが報告されてはいるが、その発癌・転移における生体内での役割については一定の見解は得られていない。我々はマウスメラノーマ細胞 B16F10 がケモカイン受容体 CXCR3 を恒常的に発現しており、*in vitro* の実験においてそのリガンドである CXCL9, CXCL10, CXCL11 に反応してアクチン細胞骨格の再構成、細胞遊走、浸潤、細胞外基質への接着さらには細胞生存の亢進をひきおこすことを見いだした。それらリガンドの主要臓器における発現を検討したところ、CXCL9 及び CXCL10 は恒常的にリンパ節においてのみ特異的に高発現していたが、CXCL11 はどの臓器にも殆ど発現は認められなかった。そこで、この CXCR3 が癌のリンパ節転移に関与しているかどうかを *in vivo* で調べるため、B16F10 細胞にアンチセンスプラスミドを導入して CXCR3 の発現を抑制した細胞株を樹立し、組織適合の同系マウス C57BL/6 の足蹠部に癌細胞を接種する同所性移植自然転移モデルを用いて下流の膝下リンパ節への転移効率を検討した。始めに接種 1 週間後の微小転移について定量的 RT-PCR 法にて検討したところ、この段階で既にアンチセンス細胞株では親株細胞や空ベクター株の約 1/4~1/8 にまで減少していた ($P < 0.05$)。次に接種 3 週間後の検討では親株細胞や空ベクター株では転移率が約 40%であったのに対し、アンチセンス細胞株では約 6%程にまで減少していた ($P < 0.05$)。一方原発巣の大きさや肺転移に関しては親株細胞や空ベクター株とアンチセンス細胞株の間に違いは認められなかった。また完全 Freund アジュバントをマウス踵部に前処置しその下流である膝下リンパ節に炎症刺激を予めおこしたところ、膝下リンパ節にて CXCL9 と CXCL10 の発現が増加して B16F10 細胞の転移が 2.5~3 倍に亢進し ($P < 0.05$)、転移巣も著明に増大した。さらに重要なことにこの転移能の亢進はアンチセンス細胞株を接種した場合には 1/2~1/4 程度にまで著しく抑制され ($P < 0.05$)、また膝下リンパ節の周囲に CXCL9 や CXCL10 の中和抗体を接種した場合にも同様に抑制された。なおこの場合にも原発巣の大きさや肺転移に関しては親株細胞や空ベクター株とアンチセンス細胞株の間に違いは認められなかった。これらの結果はリンパ節において発現している CXCL9 及び CXCL10 らのケモカインが B16F10 細胞に発現している受容体 CXCR3 を介することでその転移を促進していることを示している。最後にヒトメラノーマ細胞株とメラノーマの臨床検体を調べたところ、細胞株では 4 株中 3 株において、また臨床検体では 9 症例中 5 症例において CXCR3 の発現が認められた。以上の結果は CXCR3 の抑制が、メラノーマを始めとする癌のリンパ節転移を抑える癌治療として有効であることを示唆している。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、癌のリンパ節転移におけるケモカイン受容体 CXCR3 の関与を調べるために、アンチセンスプラスミドを遺伝子導入して CXCR3 の発現を抑制した細胞株を樹立し、同所性移植自然転移モデルを用いてリンパ節転移能の変化について

検討したものである。

本研究では始めにリンパ節転移モデルであるマウスメラノーマ細胞 B16F10 が CXCR3 を恒常的に発現しており、CXCR3 が細胞骨格の変化、遊走能や浸潤能の亢進、細胞外基質への接着、細胞生存の亢進などの反応を引き起こすことを見いだした。そこで CXCR3 の発現を抑制したアンチセンス細胞株を樹立し、癌細胞をマウスの足蹠部に接種し膝下リンパ節への自然転移について *in vivo* で検討したところ 1/4~1/8 程度に有意に抑制されていた。

次に完全 Freund アジュバンドを前処置してリンパ節に予め炎症刺激をおこしたところ、リンパ節での CXCL9 と CXCL10 の発現が増加し B16F10 細胞の転移能が 2.5~3 倍に亢進した。さらにこの転移能の亢進はアンチセンス細胞株を接種した場合には 1/2~1/4 程度に抑制され、またリンパ節領域に CXCL9 と CXCL10 の中和抗体を接種した場合にも同様に抑制された。

以上の研究は CXCR3 の抑制がメラノーマをはじめとする癌のリンパ節転移を抑える癌治療として有効であることを示唆しており、新たな癌治療戦略の開発に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値のあるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成17年1月21日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。