

氏名	せの 妹	お 尾	ひろし 浩
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)		
学位記番号	医 博 第 2523 号		
学位授与の日付	平成 14 年 7 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	医学研究科内科系専攻		
学位論文題目	Cyclooxygenase 2- and prostaglandin E ₂ receptor EP ₂ -dependent angiogenesis in <i>Apc</i> ^{Δ716} mouse intestinal polyps. (<i>Apc</i> ^{Δ716} マウス腸腫瘍におけるサイクロオキシゲナーゼ 2 およびプロスタグランジン EP ₂ 受容体を介した血管新生)		
論文調査委員	(主査) 教授 野田 亮 教授 西川伸一 教授 千葉 勉		

論 文 内 容 の 要 旨

[緒言] 血管新生は腫瘍増大に不可欠な要素とされる。しかし血管新生がいつ、どのように始まり、腫瘍増大の過程でどのように進展するかを連続的に検討した報告は少ない。また単一遺伝子変異の影響を動物モデルで正確に検討した例も乏しい。そのため本実験では、腸腫瘍の動物モデル *Apc* 遺伝子ノックアウト (*Apc*^{Δ716}) マウスを用いて、腸ポリープの増大過程における血管新生を検討した。さらに *Apc*^{Δ716} マウスに *Smad4* 遺伝子の変異を導入して生じる悪性腸ポリープとの差異も検討した。また近年シクロオキシゲナーゼ-2(COX-2)の発現が腫瘍の増大を促進することが示され、下流シグナルの検討が進みつつある。実際 *Apc*^{Δ716} マウスに COX-2 遺伝子やプロスタグランジン E₂ 受容体 EP₂ 遺伝子の変異を導入すると、ポリープの数が減少する。そこで *Apc*^{Δ716} と COX-2 あるいは EP₂ との複合変異マウスを用いて、COX-2 および下流シグナルがポリープの血管新生に与える影響も併せて解析した。

[方法] 既報のごとく *Apc*^{Δ716} マウスを、*Smad4*, COX-2, EP₁, EP₂, EP₃ の各遺伝子変異マウスと交配させ、それぞれの複合変異マウスを作出した。各マウスに生じた腸ポリープの血管内皮を抗第Ⅷ因子抗体で免疫染色し、血管密度 (microvessel density: MVD) を算出して血管新生の量的指標とした。さらにポリープでの COX-2 発現様式を免疫染色により確認したほか、血管新生因子 VEGF, bFGF についても同様の検討を行った。

[結果] *Apc*^{Δ716} マウスと *Apc*^{Δ716}*Smad4* 遺伝子変異マウスではともに径 1mm を越えたポリープで、サイズが大きくなるにしたがって MVD が増加した。COX-2 の発現は、ポリープが径約 1mm に成長した段階で誘導され、*Apc*^{Δ716} COX-2 遺伝子変異マウスでは、ポリープの径が 1mm を越えても MVD は増加しなかった。

また *Apc*^{Δ716} マウスでポリープの径が 1mm を越えたとき、VEGF と bFGF の発現が有意に増強しており、*Apc*^{Δ716} COX-2 遺伝子変異マウスでは、VEGF と bFGF の発現増強は認められなかった。これらの結果から、血管新生が COX-2 発現に依存的であることが示唆された。さらに 3 種類の *Apc*^{Δ716} EP 受容体遺伝子変異マウスでは、*Apc*^{Δ716} EP₂ 受容体遺伝子変異マウスでのみ、ポリープの径が 1mm を越えても MVD が増加せず、EP₂ を介したシグナルが血管新生に重要であることが明らかとなった。

[考察] 良性、悪性にかかわらず、ポリープの血管新生はサイズ依存性に増加したため、血管新生の量的促進には腫瘍の悪性化が必須でないことが示唆された。また、腫瘍のサイズ依存性に発現する COX-2 が、プロスタグランジン E₂ および EP₂ 受容体経路を介して、VEGF や bFGF などの血管新生因子の発現誘導を制御し、腫瘍の血管新生を量的に促進すると考えられた。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

腫瘍が増大するためには血管新生が不可欠である。そこで腫瘍増大に伴う血管新生の様式と調節因子を明らかにするために、申請者らは種々のノックアウトマウスを用いた *in vivo* 解析を行った。

まず腸腫瘍モデル Apc^{4716} マウスに、腫瘍悪性をきたす $Smad4$ 、腫瘍退縮をきたす COX-2, EP₂ の各遺伝子変異を導入した。次に各マウスの腸ポリープの血管密度、および COX-2, VEGF, bFGF の発現様式を免疫染色で検討した。その結果、 Apc^{4716} マウスと $Apc^{4716}Smad4$ 遺伝子変異マウスでは径 1mm を越えたポリープで間質に COX-2 が発現し、ポリープのサイズ依存性に血管密度が増加した。しかし Apc^{4716} COX-2 遺伝子変異マウスでは、ポリープ径が 1mm を越えても血管密度は増加しなかった。また VEGF と bFGF の発現は、 Apc^{4716} マウスでポリープ径が 1mm を越えると増強したのに対し、 Apc^{4716} COX-2 遺伝子変異マウスでは増強しなかった。したがって血管新生はポリープの悪性度とは関係なく、腫瘍のサイズ依存性に発現する COX-2 により制御を受けることが示唆された。さらに $Apc^{4716}EP_2$ 遺伝子変異マウスでも、ポリープ径が 1mm を越えても血管密度は増加せず、血管新生における EP₂ 受容体の重要性が明らかとなった。

以上の研究は、腫瘍における血管新生の機序解明に貢献し、消化器病態学にも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あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成14年6月10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。