



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

犬の腫瘍性疾患における抗酸化タンパク質ペルオキシレドキシシン1および2の発現に関する病理学的研究

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2023-06-26 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 大塚, 成己 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/00101258

氏名(本(国)籍)	大塚成己(福岡県)
主指導教員氏名	岐阜大学 教授 酒井洋樹
学位の種類	博士(獣医学)
学位記番号	獣医博甲第2号
学位授与年月日	令和5年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科及び専攻	共同獣医学研究科 共同獣医学専攻
研究指導を受けた大学	岐阜大学
学位論文題目	犬の腫瘍性疾患における抗酸化タンパク質ペルオキシレドキシシン1および2の発現に関する病理学的研究
審査委員	主査 岐阜大学 教授 森 崇 副査 岐阜大学 教授 酒井洋樹 副査 鳥取大学 教授 森田剛仁

学位論文の内容の要旨

Peroxioredoxin (PRDX) は PRDX1-6 のアイソフォームを有する抗酸化酵素群である。PRDX の主な機能は抗酸化作用であるが、それ以外にシグナル伝達経路の様々なタンパク質の酸化還元状態を調節し、これらの活性を制御(レドックス制御)することも知られている。ヒトの様々な腫瘍で、PRDX の発現の変化によるレドックス制御の異常と腫瘍発生や悪性化などとの関連が明らかとなりつつある。一方で、犬の PRDX の発現に関する研究は、腫瘍のみならず、正常組織においてもほとんどない。本研究では、犬の腫瘍における PRDX の発現の基礎的情報の収集のために、犬の正常組織と各種の腫瘍における PRDX1 および 2 の発現を免疫組織化学的に検索した。さらに犬の血管肉腫においては、免疫組織化学的検索に加えて、犬の血管肉腫細胞株を用いて、PRDX1 の発現の意義を検討した。

第1章では、犬の正常組織と自然発生腫瘍における PRDX1 および 2 の発現を免疫組織化学的に検索した。正常な表皮扁平上皮細胞や毛包、皮脂腺およびアポクリン汗腺などの上皮細胞で、PRDX1 および 2 が強陽性を示した。乳腺の管腔上皮細胞は PRDX1 陽性かつ PRDX2 陰性であった。腎臓では尿細管上皮細胞が、また肝臓では肝細胞および胆管上皮細胞が PRDX1 および 2 に陽性を示したが、膀胱移行上皮細胞は PRDX1 が強陽性、PRDX2 は陰性であった。PRDX1 は広く上皮細胞で陽性であったものの、PRDX2 は陰性のものもみられた。非上皮細胞においては、血管内皮細胞は PRDX1 および 2 のいずれにも陰性で、脾臓においては、PRDX1 はリンパ球や赤芽球を含む赤血球系細胞で陽性、PRDX2 は赤血球系細胞のみで陽性を示した。これらの犬の正常組織における PRDX1 および 2 の発現性は、ヒトやげっ歯類の正常組織における PRDX の発現の報告とおおむね一致しており、哺乳類における PRDX1 や 2 のアミノ酸配列の高い相同性を加味すると PRDX1 および 2 は、哺乳類では同様の機能を発揮していることが示唆された。

次に、犬の代表的な自然発生腫瘍における PRDX1 および 2 の発現について免疫組織化学的に検索した。毛包性腫瘍や扁平上皮癌、乳腺腫瘍、移行上皮癌などの上皮細胞由来の腫瘍では、腫瘍細胞が PRDX1 および 2 に強陽性を示した。扁平上皮癌では、予後が悪い口腔原発の扁平上皮癌において、皮膚原発の扁平上皮癌と比較して PRDX1 の陽性スコアが有意

に高かったことより、口腔扁平上皮癌における PRDX1 の発現亢進は、その悪性動態に関与している可能性が考えられた。また、リンパ腫、肥満細胞腫、皮膚形質細胞腫および犬皮膚組織球腫では、PRDX1 に陽性を、PRDX2 には陰性を示すものが多かった。この中で、T 細胞性リンパ腫は PRDX1 が陽性であったが、リンパ節の T 細胞からなる傍皮質領域では PRDX1 が陰性であったことから、PRDX1 の免疫染色はリンパ節の傍皮質領域の過形成とリンパ腫の鑑別に有用である可能性が見出された。さらに肥満細胞腫では、Grade が高いもので PRDX2 の陽性スコアが高く、悪性度への PRDX2 の関与が疑われた。以上より、様々な犬の腫瘍において PRDX1 および 2 の陽性像が認められたが、PRDX1 および PRDX2 は、それぞれ扁平上皮癌と T 細胞性リンパ腫および肥満細胞腫の腫瘍化や悪性化に関与している可能性が示唆された。

第 2 章では、犬の血管内皮性腫瘍における PRDX1 および 2 の発現を免疫組織化学的に検索し、良性の海綿状血管腫と比較して、悪性の血管肉腫において、発生部位や組織型に関わらず PRDX1 および 2 の陽性スコアが顕著に高いことを明らかにした。

犬の血管肉腫における PRDX1 の役割を解析するために、犬の血管肉腫細胞株を用いて、PRDX1 のノックダウン実験を実施したところ、血管肉腫細胞の cell viability が低下した。しかし、細胞形態は変化せず、死滅細胞の増加もみられなかった。よって、PRDX1 のノックダウンにより、細胞増殖の遅延が生じた可能性が示唆され、PRDX1 は犬の血管肉腫細胞の細胞増殖の亢進に関与する可能性が考えられた。

以上より、本研究において、これまで報告のなかった犬の正常組織および腫瘍における PRDX1 および 2 の発現についての免疫組織学的特徴を明らかにした。さらに血管肉腫をはじめとした、いくつかの腫瘍では、PRDX の発現亢進と腫瘍化や悪性化への関与が示唆された。

審査結果の要旨

本研究では、犬の腫瘍における抗酸化タンパク質であるペルオキシレドキシシン (PRDX) の発現の基礎的情報を得るために、犬の正常組織と各種の腫瘍における PRDX1 および 2 の発現を免疫組織化学的に検索した。さらに犬の血管肉腫では、免疫組織化学的検索に加えて、犬の血管肉腫細胞株を用いて PRDX1 の発現の意義を検討した。

第 1 章では、犬の正常組織と自然発生腫瘍における PRDX1 および 2 の発現を免疫組織化学的に検索した。正常な表皮扁平上皮細胞や皮脂腺およびアポクリン汗腺などの上皮細胞では、PRDX1 および 2 が強陽性を示し、乳腺の管腔上皮細胞は PRDX1 陽性かつ PRDX2 陰性であった。腎臓では尿細管上皮細胞が、肝臓では肝細胞および胆管上皮細胞が PRDX1 および 2 に陽性を示したが、膀胱移行上皮細胞は、PRDX1 が強陽性、PRDX2 は陰性であった。非上皮細胞においては、血管内皮細胞は PRDX1 および 2 のいずれにも陰性で、脾臓においては、PRDX1 はリンパ球や赤芽球を含む赤血球系細胞で陽性、PRDX2 は赤血球系細胞のみで陽性を示した。これらの犬の正常組織における PRDX1 および 2 の発現性は、ヒトやげっ歯類の正常組織における PRDX の発現の報告とおおむね一致しており、哺乳類における PRDX1 や 2 の高い相同性を加味すると PRDX1 および 2 は、哺乳類では同様の機能を発揮していることが示唆された。

続いて、犬の代表的な自然発生腫瘍における PRDX1 および 2 の発現について免疫組織化学的に検索した。毛包性腫瘍や扁平上皮癌、乳腺腫瘍、移行上皮癌などの上皮細胞由来の腫瘍では、腫瘍細胞が PRDX1 および 2 に強陽性を示した。扁平上皮癌では、転移しやすく予後が悪い口腔原発の扁平上皮癌において、皮膚原発の扁平上皮癌と比較して PRDX1 の陽性スコアが有意に高かったことより、口腔扁平上皮癌における PRDX1 の発現亢進は、その悪性動態に関与している可能性が考えられた。また、リンパ腫、肥満細胞腫、皮膚形質細胞腫および犬皮膚組織球腫では、PRDX1 に陽性を、PRDX2 には陰性を示すものが多かった。

この中で、T細胞性リンパ腫はPRDX1が陽性であったが、正常なリンパ節のT細胞からなる傍皮質領域ではPRDX1が陰性であったことから、PRDX1の免疫染色はリンパ節の傍皮質領域の過形成とリンパ腫の鑑別に有用である可能性を見出した。さらに肥満細胞腫では、Gradeが高いものでPRDX2の陽性スコアが高く、悪性度へのPRDX2の関与が疑われた。

第2章では、犬の血管内皮性腫瘍におけるPRDX1および2の発現を免疫組織化学的に検索し、良性の海綿状血管腫と比較して、悪性の血管肉腫において、PRDX1および2の陽性スコアが顕著に高いことを明らかにした。続いて、犬の血管肉腫におけるPRDX1の役割を解析するため、犬の血管肉腫から樹立された細胞株を用いて、PRDX1のノックダウン実験を実施したところ、血管肉腫細胞のcell viabilityが低下したが、細胞形態は変化せず、死滅細胞の増加もみられなかったことから、PRDX1のノックダウンにより、細胞増殖の遅延が生じた可能性が示唆され、PRDX1は犬の血管肉腫細胞の細胞増殖の亢進に関与する可能性が考えられた。

以上より、本研究では、これまで報告のなかった犬の正常組織および腫瘍におけるPRDX1および2の発現についての免疫組織学的特徴を明らかにし、さらに血管肉腫をはじめとした、いくつかの腫瘍では、腫瘍におけるPRDXの発現亢進の、腫瘍化や悪性化への関与が示唆された。本研究で得られた知見は、犬の腫瘍におけるPRDX1および2の発現と腫瘍発生や悪性化との関係を調べるうえでの基盤的な情報となりうると考えられた。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学共同獣医学研究科の学位論文として十分価値があると認めた。

基礎となる学術論文

- 1) 題 目 : The immunohistochemical detection of peroxiredoxin 1 and 2 in canine spontaneous vascular endothelial tumors
著 者 名 : Otsuka, N., Ishimaru, K., Murakami, M., Goto, M., Hirata, A. and Sakai, H.
学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science
巻・頁・発行年 : 84 : 914-923, 2022