

氏 名（本籍）	今 井 俊 夫（京 都 府）
学 位 の 種 類	博士（獣医学）
学 位 記 番 号	獣医博乙第14号
学 位 授 与 年 月 日	平成9年9月26日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第2項該当
学 位 論 文 題 目	ラットの実験的肝発癌に関する分子病理学的研究
審 査 委 員	主査 岐 阜 大 学 教 授 柵 木 利 昭 副査 岐 阜 大 学 教 授 鈴 木 義 孝 副査 東京農工大学 教 授 桐 生 啓 治 副査 岩 手 大 学 教 授 岡 田 幸 助 副査 帯広畜産大学 教 授 西 村 昌 数 副査 国立衛生試験所 三 森 国 敏

論 文 の 内 容 の 要 旨

近年、実験的発癌過程の病理学的研究から、腫瘍は多段階の過程を経て発生することが明らかにされた。しかし、発癌過程における中間病変である前癌病変と、反応性の可逆的増殖性病変との区別が困難な場合がしばしば見受けられる。したがって、的確な病理組織診断を行う上で、発癌過程における初期病変あるいは前癌病変の生物学的特性を明らかにすることは極めて重要である。本研究では、ラットの肝臓の発癌過程にみられる前癌病変および腫瘍性病変の生物学的特性をより明らかにする目的で、分子病理学的手法を用い、代表的な特異的マーカー酵素および細胞増殖因子に関する検討を実施した。実験には、ジエチルニトロサミン、2-アセチルアミノフルオレンおよび肝部分切除による化学発癌モデルを用いた。

1. グルタチオン S-トランスフェラーゼ-P および γ -グルタミルトランスフェラーゼ mRNA の発現および分布

ラットの肝臓に前癌病変である変異細胞巣および腫瘍性結節を誘発し、 γ -グルタミルトランスフェラーゼ (GGT) に対する組織化学およびグルタチオン S-トランスフェラーゼ-P (GST-P) mRNA に対する *in situ* ハイブリダイゼーション (ISH) を行った。その結果、比較的小型の細胞巣および結節において GGT の発現が消失し、GGT が消失した病変の一部において GST-P mRNA の発現が低下あるいは消失することを見出した。また、肝細胞癌においては、GST-P mRNA の発現の程度は高かったが、GGT mRNA の発現は多様であった。このことから、ラット肝発癌の全過程において GST-P は蛋白レベルのみならず、mRNA レベルにおいても前癌病変および腫瘍性病変の安定したマーカー酵素であることが示された。さらに、ラット肝臓の前癌病変の発育は、GST-P および GGT の持続的な発現と関連

性があると考えられた。

2. 肝細胞増殖因子に関する産生細胞の同定および分布

ラット肝臓の発癌モデルを用いて、前癌病変が発育する時期の肝組織における肝細胞増殖因子 (HGF) 産生細胞を同定し、さらにその分布を免疫組織化学および ISH により検索した。その結果、HGF 産生細胞は主に星状大食細胞であることが示された。また同細胞は、前癌病変の内部にはほとんど存在せず、病変周囲の肝実質、特に oval cell の増生がみられた領域に多数認められた。このことから、HGF は前癌病変における変異肝細胞の増殖には関与していないと考えられた。

3. 肝細胞増殖因子および *c-met* mRNA の発現レベルの推移

ラット肝臓の前癌病変および肝細胞癌の発育過程における HGF およびその受容体の *c-met* の mRNA レベルをノザンプロット法およびドットプロット法を用いて測定、解析した。その結果、肝臓において oval cell が増生する時期には HGF および *c-met* mRNA の発現は著明な上昇を示したが、前癌病変の発育との関連性はみられなかった。また、肝細胞癌において HGF および *c-met* の過剰発現はみられなかった。このことから、HGF および *c-met* は正常肝細胞および oval cell の増殖に関与するが、前癌性および腫瘍性肝細胞には関与しないことが示された。

本研究により、ラットの実験的肝発癌モデルを用いて、前癌病変および肝細胞癌における特異的酵素および増殖因子の発現について分子病理学的に検討し、前癌病変および腫瘍性病変の発育との関連性を明らかにした。今回の研究成果は、ラットを用いた癌原性試験により医薬品など化学物質の発癌リスクを評価する上で、その確度を高めるために重要な役割を果たすであろう。さらに発癌メカニズムの解明のためにも大きく寄与すると考えられた。

審 査 結 果 の 要 旨

申請者はエーザイ株式会社安全性研究所において、げっ歯類を用いた医薬品の癌原性試験などでみられる腫瘍性病変の病理組織学的検査を通し、ラットの発癌過程にみられる中間的病変としての前癌病変の生物学的特性をより明らかにする必要性を痛感し、この研究に取り組んだ。

1. グルタチオン S-トランスフェラーゼ-P および γ -グルタミルトランスフェラーゼ mRNA の発現および分布

Solt-Farber モデルによりラットの肝臓に前癌病変である変異細胞巣および腫瘍性結節を誘発し、 γ -グルタミルトランスフェラーゼ (GGT) に対する組織化学およびグルタチオン S-トランスフェラーゼ-P (GST-P) mRNA に対する *in situ* ハイブリダイゼーション (ISH) を行った。その結果、比較的小型の細胞巣および結節において GGT の発現が消失し、GGT が消失した病変の一部において GST-P mRNA の発現が低下あるいは消失することを見出した。また、肝細胞癌においては、GST-P mRNA の発現の程度は高かったが、GGT mRNA の発現は多様であった。このことから、ラット肝発癌の全過程

において GST-P は蛋白レベルのみならず, mRNA レベルにおいても前癌病変および腫瘍性病変の安定したマーカーであることが示された。さらに, ラット肝臓の前癌病変の発育は, GST-P および GGT の持続的な発現と関連性があると考えられた。

2. 肝細胞増殖因子に関する産生細胞の同定および分布

ラット肝臓の発癌モデルを用いて, 前癌病変が発育する時期の肝組織における肝細胞増殖因子 (HGF) 産生細胞の分布を免疫組織化学および ISH により検索した。その結果, HGF 産生細胞は, 前癌病変の内部にはほとんど存在せず, 病変周囲の肝実質に多数認められた。このことから, HGF は前癌病変における変異肝細胞の増殖には関与していないと考えられた。

3. 肝細胞増殖因子および *c-met* mRNA の発現レベルの推移

ラット肝発癌過程における HGF およびその受容体である *c-met* の mRNA レベルをノザンプロット法およびドットプロット法を用いて測定, 解析した。その結果, 肝臓において oval cell が増生する時期には HGF および *c-met* mRNA の発現は著明な上昇を示したが, 前癌病変の発育との関連性はみられなかった。また, 肝細胞癌において HGF および *c-met* の過剰発現はみられなかった。このことから, HGF および *c-met* は正常肝細胞および oval cell の増殖に関与するが, 前癌性および腫瘍性肝細胞の増殖には関与しないことが示された。

本研究により, ラットの実験的肝発癌モデルを用いて, 前癌病変および肝細胞癌における特異的酵素および増殖因子の発現について分子病理学的に検討し, 前癌病変および腫瘍性病変の発育との関連性を明らかにしたことは高く評価される。今回の研究成果は, 医薬品など化学物質の発癌リスクを評価する上で, その確度を高めるために重要な役割を果たすであろう。さらに発癌メカニズムの解明のためにも大きく寄与すると考えられた。

以上について, 審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値あるものと認めた。