

氏名（本（国）籍）	Shehata Ibrahim Anwar Shehata (エジプト・アラブ共和国)
主指導教員氏名	岐阜大学 教授 柳 井 徳 磨
学位の種類	博士（獣医学）
学位記番号	獣医博甲第467号
学位授与年月日	平成28年9月26日
学位授与の要件	学位規則第3条第2項該当
研究科及び専攻	連合獣医学研究科 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	Pathological Study on Mechanisms of Malignant Proliferation of Canine Hemangiosarcomas (犬血管肉腫の悪性増殖機構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 帯広畜産大学 教 授 古 林 与志安 副査 岩 手 大 学 教 授 御 領 政 信 副査 東京農工大学 教 授 渋谷 淳 副査 岐 阜 大 学 教 授 柳 井 徳 磨

学位論文の内容の要旨

犬の血管肉腫 (HSA) は血管内皮 (EC) 由来の悪性腫瘍であり、予後が不良とされるヒトの血管肉腫 (AS) とよく類似した特徴を示す。同肉腫の治療に際しては、市販の抗血管新生薬には比較的に効果がない。また、HSA の生物学的研究から、血管腫瘍の悪性化には血管新生に関わる分子経路の異常が重要な役割を演じる証拠が報告されている。そのため、血管内皮由来悪性腫瘍の生物学的研究における、血管新生関連経路のより深い理解と AS および HAS への効果的な治療法の確立のために、さらなる研究が必要である。

第一章では、犬の HSA、血管腫 (HA)、対照としての皮膚肉芽組織につき、ウロキナーゼプラスミノゲンアクチベーター (uPA) および uPA 受容体 (uPAR) の発現を免疫組織的に検討したところ、肉芽組織の新生血管では、内皮細胞に uPA および uPAR の発現が確認された。正常真皮内の休止内皮細胞はこれらの分子が陰性を示すことから、uPA/uPAR システムは、血管新生において重要な役割を有すると考えられた。一方、犬 HSA と HA の臨床材料につき、uPA および uPAR たんぱく質の検出を免疫組織的に実施したところ、uPA および uPAR の発現は、HA に比較して HSA の方が有意に高かった。HSA の腫瘍性内皮細胞における uPA および uPAR の発現は、血管新生時の活性化内皮細胞と同様と考えられた。また、uPA とその受容体の結合は、プラスミノゲンのプラスミンへの活性化を促進する。腫瘍細胞での両分子の検出は uPA/uPAR 産生を介したプラスミノゲンの活性化を制御しうることが示唆された。HSA と HA の組織において uPA および uPAR の発現と Ki-67 陽性率との相関も評価したところ、uPA (+) /uPAR (+) の HSA の平均 Ki-67 陽性率は、uPA (-) /uPAR (+) の HSA および HA の平均 Ki-67 陽性率に比較して高い値を示した。以上のことから、uPA および uPAR が、HSA の悪性増殖に有意な役割を果たすことが示唆された。

第二章では、HSA および HA における peroxiredoxin-6 (PRDX6) の発現を免疫組織学的に検討したところ、HA よりも HSA において PRDX6 の有意な発現が認められた。また、HSA の細胞株において発現の程度には差がみられたが、正常な犬の内皮細胞に比較して、mRNA とたんぱく質の過剰発現がみられた。低分子干渉 RNA による PRDX6 の発現抑制によって、HSA 細胞にアポトーシスが誘導された。PRDX6 の抑制により、細胞の傷害が起こるという点から、PRDX6 は細胞生存に重要な役割を果たすことが示唆された。

以上、uPA、uPAR および PRDX6 は、犬の血管肉腫 (HSA) の新規治療ターゲットとなりうることを示めされ、in vivo モデルは HSA のさらなる治療法の開発に有用と考えられた。

学位論文審査結果の要旨

犬の血管肉腫 (HSA) は血管内皮 (EC) 由来の悪性腫瘍であり、予後が不良とされるヒトの血管肉腫 (AS) とも共通した特徴を有する。血管肉腫には、市販の抗血管新生薬は比較的に効果がなく、有効な抗腫瘍薬の開発が待たれている。一方、近年、血管肉腫の生物学的研究から、血管腫瘍の悪性化には血管新生に関わる分子経路の異常が重要な役割を演じる証拠を示す報告が増加している。そのため、血管内皮性悪性腫瘍の生物学における血管新生関連経路のより深い理解と AS および HSA のより効果的な治療法の確立のために、さらなる研究が必要である。

第一章では、犬の HSA、血管腫 (HA)、対照としての皮膚肉芽組織につき、ウロキナーゼプラスミノゲンアクチベーター (uPA) および uPA 受容体 (uPAR) の発現を免疫組織的に検討したところ、肉芽組織の新生血管では、内皮細胞に uPA および uPAR の発現が確認された。正常真皮内の休止内皮細胞はこれらの分子が陰性を示すことから、uPA/uPAR システムは、血管新生において重要な役割を有すると考えられた。一方、犬 HSA と HA の臨床材料につき、uPA および uPAR たんぱく質の検出を免疫組織的に実施したところ、uPA および uPAR の発現は、HA に比較して HSA の方が有意に高かった。HSA の腫瘍性内皮細胞における uPA および uPAR の発現は、血管新生時の活性化内皮細胞と同様と考えられた。また、uPA とその受容体の結合は、プラスミノゲンのプラスミンへの活性化を促進する。腫瘍細胞での両分子の検出は uPA/uPAR 産生を介したプラスミノゲンの活性化を制御しうることが示唆された。HSA と HA の組織において uPA および uPAR の発現と Ki-67 陽性率との相関も評価したところ、uPA (+) /uPAR (+) の HSA の平均 Ki-67 陽性率は、uPA (-) /uPAR (+) の HSA および HA の平均 Ki-67 陽性率に比較して高い値を示した。以上のことから、uPA および uPAR が、HSA の悪性増殖に有意な役割を果たすことが示唆された。

第二章では、HSA および HA における peroxiredoxin-6 (PRDX6) の発現を免疫組織学的に検討し、HA より HSA において PRDX6 の有意な発現が認められた。さらに、HSA の細胞株において発現の程度には差がみられたが、正常な犬の内皮細胞に比較して、mRNA とたんぱく質の過剰発現がみられた。低分子干渉 RNA による PRDX6 の発現抑制によって、HSA 細胞にアポトーシスが誘導された。PRDX6 の抑制により、細胞の傷害が起こるという点から、PRDX6 は細胞生存に重要な役割を果たすことが示唆された。

以上のことから、uPA、uPAR および PRDX6 は、犬の血管肉腫の新規治療ターゲットとなりうることを示唆され、in vivo モデルは犬の血管肉腫のさらなる治療法の開発に必要とされる。

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があると認めた。

基礎となる学術論文

- 1) 題 目 : Immunohistochemical detection of urokinase plasminogen activator and urokinase plasminogen activator receptor in canine vascular endothelial tumours
著 者 名 : Anwar, Sh., Yanai, T. and Sakai, H.
学術雑誌名 : Journal of Comparative Pathology
巻・号・頁・発行年 : 153 (2-3):278-282, 2015
- 2) 題 目 : Overexpression of peroxiredoxin-6 protects neoplastic cells against apoptosis in canine haemangiosarcoma
著 者 名 : Anwar, Sh., Yanai, T. and Sakai, H.
学術雑誌名 : Journal of Comparative Pathology
巻・号・頁・発行年 : in press

既発表学術論文

- 1) 題 目 : Monitoring of parasitic cysts in the brains of a flock of sheep in Egypt
著 者 名 : Anwar, S., Mahdy, E., El-Nesr, K.A., El-Dakhly, M., Shalaby, A. and Yanai, T.
学術雑誌名 : Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria
巻・号・頁・発行年 : 22 (3): 1-8, 2013
- 2) 題 目 : Coenurus cerebralis cysts in the left lateral cerebral ventricle of a ewe
著 者 名 : Haridy, M., Sakai, H., EL-Nahass, E., EL-Morsey, A., Anwar, S. and Yanai, T.
学術雑誌名 : Journal of Veterinary Medical Science
巻・号・頁・発行年 : 75 (12):1643-1646, 2013
- 3) 題 目 : Susceptibility of Balb/c-nu/nu mice and Balb/c mice to equine herpesvirus 9 infection
著 者 名 : El-Nahass, E.S., El-Dakhly, K.M., El-Habashi, Anwar, S., Sakai, H., Hirata, A., Okada, A., Ab-Sakaya, R., Fukushi, H. and Yanai, T.
学術雑誌名: Veterinary Pathology
巻・号・頁・発行年 : 51:581-590, 2014
- 4) 題 目 : Immunohistochemical analysis of CD146 expression in canine skin tumours
著 者 名 : Aou Asa, S., Anwar, S., Yanai, T. and Sakai, H.
学術雑誌名 : Histology & Histopathology
巻・号・頁・発行年 : 31:453-459, 2016