

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 鈴木 聡

本論文では、イヌの悪性末梢神経鞘腫瘍(MPNSTs)の診断基準の確立、MPNSTs と組織学的特徴が酷似する血管周壁腫瘍(PWTs)の鑑別診断に有用なマーカーの探索、MPNSTs と顆粒細胞腫瘍(GCTs)の由来細胞の特定、GCTs の細胞質内顆粒の性状の解明、および、これらの腫瘍におけるがん幹細胞(CSCs)の存在の可能性を検討することを目的に病理学的研究を行った。

第1章第1項では、MPNSTs の由来細胞の特定と診断基準の確立を目的に、末梢神経系(PNS)に発生した MPNSTs 16 例と軟部組織または体腔内諸臓器(non-PNS)に発生した MPNSTs 14 例における病理組織学的特徴と S100、nestin、NGFR、Olig2、claudin-1、CD57、PRX、 α -SMA、desmin、calponin に対する免疫組織化学的検索を行った。イヌの MPNSTs の病理組織学的特徴は、発生部位にかかわらず類似していた。また、PNS に発生した MPNSTs では、S100、Olig2、claudin-1 の発現が non-PNS に発生した MPNSTs よりも有意に強かった。クラスター解析では、MPNSTs は二群に分かれなかった。以上より、イヌの MPNSTs は発生部位にかかわらず、Schwann 細胞、神経周膜細胞に由来し、類似の病理学的特徴を示し、ヒトの MPNSTs と同一の形態学的診断基準を適用できることが示された。

第1章第2項では、MPNSTs と PWTs の鑑別診断に有用なマーカーの探索を目的に、MPNSTs 30 例と PWTs 31 例について、第1項と同様の免疫組織化学的検索を行った。各マーカーに対する平均陽性細胞率は、 α -SMA と calponin を除いて、MPNSTs で PWTs よりも有意に高かった。 α -SMA と calponin は、PWTs で MPNSTs よりも有意に高かった。クラスター解析では両腫瘍は二群に分類されたが、3 例の MPNSTs は PWT 群に、NGFR あるいは Olig2 を発現していた 6 例の PWTs は MPNST 群に分類された。MPNST 群に分類されなかった PWT 症例では、NGFR が全例で陰性、Olig2 が 2 例を除き陰性であったことから、NGFR と Olig2 は、MPNSTs と PWTs の鑑別診断に最も有用なマーカーであることが示された。

第2章では、舌の GCTs の由来細胞の特定と、細胞質内顆粒の性質の解明を目的として、良性 GCTs 11 例および悪性 GCT 1 例について、病理組織学的検索、免疫組織化学的検索、透過型電子顕微鏡(TEM)検索を行った。さらに、1 例の良性 GCT の新鮮腫瘍組織から細胞培養と免疫不全マウスへの異種移植実験を行った。その結果、複数の GCTs で S100、vimentin、nestin、NGFR、CD133、desmin の発現が認められ、腫瘍細胞の細胞質内顆粒は LC3、p62、NBR1、ubiquitin に陽性であった。さらに、TEM 観察の結果、腫瘍細胞の細胞質にオートファゴソーム様の膜状構造物が認められた。培養細胞は悪性形質を呈し、S100、nestin、Melan A、CD133、LC3、p62、NBR1、ubiquitin を発現していた。移植腫瘍は、紡錘形から多角形

の腫瘍細胞で構成され、少数の腫瘍細胞にのみ細胞質内顆粒が存在し、複数の細胞の細胞質にはメラニン顆粒が認められた。腫瘍細胞は S100、nestin、Melan A、CD133 を発現していた。p62 と ubiquitin は細胞質内顆粒の有無にかかわらず陽性であったが、LC3 と NBR1 は細胞質内顆粒を有する腫瘍細胞でのみ陽性であった。以上より、イヌの舌の GCTs は神経堤細胞に由来すること、その細胞質内顆粒はオートファジーによって形成されること、また、腫瘍細胞の形態はその微小環境に依存して変化することが示された。

第 3 章では、MPNSTs、GCTs、PWTs における CSCs の存在の可能性を検討することを目的として、nestin、NGFR、CD34、CD133 の発現を免疫組織化学的に調べた。また、MPNST、PWT 各 1 例の新鮮腫瘍組織から細胞培養を行い、培養細胞の細胞学的特徴を調べるとともに、SCID マウスへの異種移植実験を行った。MPNSTs で nestin、NGFR、CD34、CD133 を発現する症例が複数認められ、PWTs でも、nestin、CD34、CD133 を発現する症例が認められた。また、MPNSTs、PWTs とともに、原発腫瘍、培養細胞、移植腫瘍それぞれの腫瘍細胞の形態、組織学的構築は類似していた。GCTs では、CD34 と CD133 の発現が多く原発腫瘍および移植腫瘍で認められた。以上より、イヌの MPNSTs、GCTs、PWTs には CSCs が存在する可能性が示された。

本研究で得られた一連の知見は、イヌの神経堤に由来する末梢神経鞘腫瘍や顆粒細胞腫瘍、および関連する血管周壁腫瘍の分類や病態解明の一助となると思われる。よって審査委員一同は本論文が博士（獣医学）の学位を授与するに値すると認めた。