

氏 名（本籍）	おお 大	ごし 越	たか 崇	ひこ 彦
学 位 の 種 類	博 士（医 学）			
学 位 記 番 号	医 第 2 8 6 9 号			
学 位 授 与 年 月 日	平 成 8 年 3 月 8 日			
学 位 授 与 の 条 件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当			
最 終 学 歴	昭 和 62 年 3 月 25 日 東 北 大 学 医 学 部 医 学 科 卒 業			
学 位 論 文 題 目	マウス大腸癌細胞株 colon 26 の肝転移形成における CD44 の関与			

(主 査)

論 文 審 査 委 員	教 授 松 野 正 紀	教 授 名 倉 宏
	教 授 堀 井 明	

## 論 文 内 容 要 旨

大腸癌は治癒切除後もほぼ 10%の症例に肝転移再発を来し、その有無が予後決定因子として重要である。肝転移形成の機序として、原発巣を遊離した大腸癌細胞が門脈血行性に肝に流入し微小循環に捕捉され着生・増殖するものと考えられ、肝生着過程において種々の細胞接着分子や増殖因子が関与することが報告されている。

CD44 は血球系細胞や上皮系細胞に広範に発現される細胞接着分子で、当初、リンパ球におけるリンパ球の high endothelial venule への接着に関与する lymphocyte homing receptor として報告されたものであるが、最近になってその発現が癌の悪性度や転移に関係するものとして注目され、CD44 の変異アイソタイプ (CD44v) の発現によりラット膵癌細胞が転移能を獲得すること、ヒト大腸癌において CD44v の発現が大腸上皮の悪性化や転移形成に関係することなどが示されている。

本研究では、マウス大腸癌細胞株 colon 26 による実験肝転移を作製して肝転移形成の初期像を観察し、細胞接着分子 CD44 の転移形成との関与を検討した。

colon 26 細胞  $1 \times 10^5$  個の BALB/c マウス門脈内投与により 72 時間後に中間域 (zone 2) 類洞に組織学的微小転移を認め、門脈内皮に付着した癌細胞の肝実質への浸潤性増殖像も少数認められた。7 日後には肝表面に肉眼的転移結節が確認され、14 日後には 100%のマウスが肝表面に肉眼的腫瘍結節を形成した ( $n=20$ )。  $1 \times 10^5$  個の colon 26 細胞の門脈内投与は肝転移とともに全マウスに腹膜転移を形成したが肉眼的肺転移形成はいずれのマウスにも認められなかった。

抗 CD44 モノクロナル抗体である IM7 を用いた免疫組織化学染色では colon 26 細胞の表面に CD44 の強い発現が認められた。肝転移巣の増大にともなう colon 26 細胞の CD44 発現に変化はなく、また zone 2 類洞での転移巣と門脈内皮接着転移巣との間にも CD44 の発現に明らかな差異は認めなかった。

colon 26 細胞を抗 CD44 抗体 IM7 で処理し、門脈内投与後 3 日、5 日、7 日、14 日において肝転移抑制効果を判定した。コントロール群では、門脈内投与後 7 日目に 33% (1/3)、14 日目に 100% (5/5) 明らかな肉眼的肝転移結節を形成したのに対し、IM7 処理群では投与後 14 日までに肉眼的肝転移を認めなかった ( $n=5$ )。抗 ICAM-1 抗体処理は colon 26 の肝転移形成を抑制せず PBS コントロール群と差を認めなかった ( $n=5$ )。組織学的観察では投与 5 日以降の IM7 処理群にも微小肝転移が認められたが、肝転移巣占拠率の定量化による比較では、いずれの時期においても抗体処理群の腫瘍占拠率が明らかに低率であった。なお、抗 CD44 抗体 IM7 による処理は colon 26 の門脈内投与による腹膜転移形成を抑制せず、また colon 26 の in vitro での増

殖も抑制しなかった。

抗 CD44 抗体処理群, コントロール群とも門脈内投与後 10 週後には全マウスが腫瘍死した。死因は主として腹膜転移によるものと思われ, 両群の長期生存に有意の差は認めなかった。

以上より, マウス大腸癌細胞 colon 26 は細胞接着分子 CD44 を発現し, 抗 CD44 抗体処理は colon 26 の肝転移形成を著明に抑制した。この転移抑制機序は CD44 を介する colon 26 の肝脈管内皮との接着の阻害, または肝微小循環での colon 26 の増殖の抑制によるものと考えられた。colon 26 が発現する CD44 の変異アイソタイプとその機能, さらに CD44 のリガンドに関してはこれまでに十分な検討が行われておらず, 現在解析を進めている。これらの解明により CD44 が転移に関与する機構が明らかになるものと期待される。

## 審査結果の要旨

大腸癌は外科的に治癒切除が行われても約10%に肝転移を来し、その有無が重要な予後決定因子である。肝転移形成の機序は、原発巣を遊離した大腸癌細胞が門脈血行性に肝に流入し微小循環に捕捉されて生着・増殖するものと考えられ、肝生着過程において種々の細胞接着分子や増殖因子が関与することが報告されている。一方、動物実験や臨床例の検討からは肝に流入した癌細胞の一部だけが選択的に転移巣を形成することが示され、癌細胞転移能決定因子はまだ十分に解明されていない。今回注目した CD44 は血球系細胞や上皮系細胞に広く発現される細胞接着分子で、lymphocyte homing receptor として最初に報告されたものだが、その後、CD44 の発現が癌の悪性度や転移能獲得に関係することが明らかにされてきている。本研究は、マウス大腸癌細胞株 colon 26 の肝転移形成における CD44 の関与について検討したものである。

実験肝転移モデルは  $1 \times 10^5$  個の colon 26 細胞のマウス門脈内投与により作製された。投与14日後には全マウスに肉眼的肝転移が形成された。なお、全マウスに腹膜転移は形成したが肺転移は認めなかった。組織学的検索では、門脈内投与72時間後に、中間域類洞に癌細胞の結節性増殖を認め、また、門脈内皮に付着した癌細胞の肝実質への浸潤性増殖像も認めた。投与7日後以降には肝表面に肉眼的結節を形成した。免疫組織化学では、門脈、類洞、中心静脈の内皮に CD44 の発現を認めたほか、colon 26 細胞膜上に CD44 が強く発現された。colon 26 細胞を抗 CD44 抗体 IM7 で処理した後に門脈内投与すると、14日後には肉眼的肝転移を全く認めなかったのに対し、コントロール (PBS) 群では、14日後に全マウスが肉眼的肝転移結節を形成した。組織学的観察では投与5日後以降の IM7 処理群にも微小肝転移を認めたが、定量化による比較では、IM7 処理群の腫瘍占拠率が低率だった。なお、IM7 処理は colon 26 門脈内投与による腹膜転移形成を抑制せず、また、colon 26 の *in vitro* での増殖も抑制しなかった。colon 26 細胞投与10週後にほぼ全マウスが腫瘍死したが、死因は腹膜転移によるものと思われ、IM7 処理の有無は長期生存に影響を与えなかった。

以上より、colon 26 が CD44 を発現し、抗 CD44 抗体処理が colon 26 の肝転移形成を著明に抑制することが示された。この転移抑制機序は CD44 を介する colon 26 の肝脈管内皮との接着の阻害、または肝微小循環での colon 26 の増殖の抑制によるものと考えられる。

本研究は、マウス大腸癌細胞株 colon 26 の肝転移形成における CD44 の関与を初めて示し、今後、colon 26 が発現する CD44 変異アイソタイプやその機能、更に CD44 のリガンドに関して解析を進めることで、CD44 が転移に関与する機構を明らかにしうる手がかりをもたらした点で、博士号 (医学) を授与するに値する論文であると考えられる。