

氏名(本籍)	岩田 聖 (静岡県)
学位の種類	獣医学博士
学位記番号	乙第324号
学位授与の番号	学位規則第3条第2項該当
学位論文の要件	B6C3F ₁ マウスの自然発生性心臓血管内皮細胞増殖性病変に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 野村 靖夫 (副査) 教授 高橋 令治 教授 石橋 正彦 榎本 眞

論文内容の要旨

B6C3F₁マウスはC57BL/6雌マウスとC3H/He雄マウスの交配第一代マウス(F₁マウス)で、実験動物とくに長期毒性試験や発癌性試験に多く使用されている。血管内皮細胞由来の腫瘍が、このB6C3F₁マウスに自然発生性病変として脾臓、肝臓、骨髄、皮下などに単発性あるいは多発性に発生することはよく知られている。しかし、齧歯類においては自然発生性の心臓原発の血管内皮腫瘍の報告は極めて少なく、1968年にSchardeinらがラットで、1984年にHoch-Ligetiらがマウスでそれぞれ報告したのみである。誘発性腫瘍としても1-3-Butadiene, Captafol, 3-Methylcholanthrene, Urethaneなどの化学物質投与や放射線照射によりマウスの心臓に血管肉腫の発生が少数報告されているにすぎない。一方、心臓に観察される血管内皮細胞増生としては、前述したマウスの誘発性血管肉腫の初期病変としての報告がいくつかあるが、人間や家畜、実験動物を含め、心臓に自然発生した血管内皮細胞増生の報告は現在までされていない。

本論文では、当センターで過去7年間に行なわれた慢性毒性試験あるいは発癌性試験で使用したB6C3F₁マウスに観察された自然発生性の心臓の血管内皮細胞由来腫瘍と心臓の血管内皮細胞増生について、その形態像と血管内皮細胞増生では発生機転に関する検討を行なった。

血管内皮細胞由来の腫瘍：

雄4,160例、雌：3,910例中の5例にのみ観察された。一般血液学検査および肉眼所見において各症例共通の所見はなかった。組織学的には2例(雄1例：雌1例)が良性血管腫 benign hemangioma、3例(雄2例：雌1例)が血管肉腫 hemangiosarcomaであった。血管肉腫の2例には骨髄、肝臓や脾臓にも良性の血管内皮細胞腫 Hemangioendotheliomaが観察され、多発性ないし全身性に発生する血管内皮由来腫瘍の総称である全身性血管腫あるいは多発性内皮腫瘍とも診断されるものであった。これら5例の腫瘍細胞は、免疫組織化学的に血管内皮のマーカーである von Willebrand factor や Human endothelial cell の抗体、また Wheat germ Agglutinin (以下WGAと略す)、Concanavalin A (以下Con-Aと略す)などのレクチンに陽性を示し、血管内皮細胞由来であることが確認された。

血管内皮細胞増生：

雄4,160例、雌3,910例中の12例に観察された。全例が雌で、雄には観察されなかった。また、12例全例に乳腺の腺癌が観察された。各例に共通の特徴として、一般血液学検査結果ではヘマトクリット値、ヘモグロ

ビン量、赤血球数および血小板数が低値を示し、異型赤血球も観察された。心臓重量、心臓直径はともに背景データ値に比べ明らかな増加を示した。病変は肉眼的には心臓の肥大として観察され、組織学的には心臓全体におよぶ広範なび漫性的変化として観察された。心筋細胞を取り囲むように、丸みを帯びやや大きい核をもつ内皮細胞が一層性の増生を示した。心臓以外の臓器にも血管内皮細胞の増数や核の肥大、血管腔の拡張が脾臓、腎臓、肝臓にも観察された。増生細胞は免疫組織化学的に Vimentin に陽性を示すほか、前述の von Willebrand factor, Human endothelial cell の抗体や WGA, Con-A などのレクチンにも陽性を示した。また、電子顕微鏡学的にも自由縁の細胞表面の微絨毛様突起、細胞小器官に乏しい細胞質、中間径フィラメント、細胞間のデスモソームや Tight junction, 辺縁ヒダなどから血管内皮細胞であることが確認された。

誘発性血管内皮細胞増生（自然発生性病変との比較）：

組織学的に病変分布が局所性あるいは多局所性であること、核は明らかに淡明で不正形を呈するものが多いこと、胞体はやや大きく細胞質内に空胞をもつ細胞も観察されること、免疫組織化学的に増殖性細胞核抗原（Proliferating Cell Nuclear Antigen）に対応する抗体である抗 PCNA に陽性を示し、von Willebrand factor 抗体に陰性であったことなどの点で自然発生性血管内皮細胞増生と違いが認められた。また、電子顕微鏡学的にも不整楕円形や不整立方形を呈する細胞が多いこと、核は輪郭の不整なものが多く、クロマチンが少ないこと、細胞質では細胞小器官が比較的多く、大型の空胞も観察されること、隣接する細胞同志が重層性増殖する傾向も観察されることなどの違いが認められた。また、心臓以外の臓器での血管内皮の変化はなかった。この様にマウスの心臓に誘発された血管肉腫の前腫瘍性病変として観察される血管内皮細胞増生と自然発生性の心臓血管内皮細胞増生を比較した結果、組織形態学的に明らかな違いが認められた。このことから、自然発生性血管内皮細胞増生は前腫瘍性の病変とは病理発生的に異なるものと考えた。

自然発生性の心臓血管内皮細胞増生の病理発生について：

共通の肉眼所見として、乳癌による腹部皮下の塊（15mm以上）の他に心臓の肥大、胸水貯留、脾臓肥大などが観察され、循環障害に起因する血圧の変化や、ずり応力（shear stress）の強さの変化などの血管内皮細胞への血液動力学的作用の影響が原因の一つとして考えられた。しかし、乳癌以外の雌の15mm以上の皮下腫瘍（貧血を伴う症例を含む）および雌の胸水貯留の観察された症例の心臓には本病変は観察されなかった。従って、血液動力学的作用に対する内皮細胞の反応の可能性は低いものと考えられた。また、他臓器の血管内皮細胞にも同様な変化が発生していることから、全身性の系統的病変とも理解され、血管内皮細胞の何らかの機能的亢進による変化を示唆するものと考えられた。その原因としては、特に症例がいずれも担乳癌雌マウスに発生していることから、乳癌発生因子であるウィルスや雌性ホルモン、または乳癌に由来する腫瘍産生性の液性血管内皮細胞増殖因子などが考えられた。さらには、血管内皮細胞にこれらの因子に対する特異的な受容体が存在することも推察された。

以上、B6C3F₁マウスの心臓に自然発生する血管内皮細胞由来の腫瘍性病変および血管内皮細胞増生について、その病理形態学的な特徴、さらに血管内皮細胞増生では発生条件などについても検討した。従来、マウスの心臓に観察される血管内皮細胞の増殖性病変の殆どは、化学物質で誘発される血管肉腫やその前病変の増殖性変化として知られてきた。しかしながら、本論文で著した通り、自然発生性にも血管内皮細胞由来の腫瘍や血管内皮細胞増生が観察される。とくに、自然発生性血管内皮細胞増生では、誘発性の「前腫瘍性

血管内細胞増生」とはその病理発生が全く違うものと解される新しい病態像であることが判明した。

論文審査の結果の要旨

化学物質の慢性毒性や発癌性の評価には、実験動物の背景病変を詳細に知ることが極めて重要である。近年、このような長期試験に C57BL/6 雌マウスと C3H/He 雄マウスの F₁ である B6C3F₁ マウスがよく使用されている。自然発生性の背景病変の知見も集積されつつあり、このマウスには血管内皮細胞由来の腫瘍が、脾臓、肝臓、骨髄、皮下などに単発あるいは多発することが知られている。

齧歯類の心臓原発血管内皮腫瘍の自然発生例の報告はごく少数で、Schardein ら (1968年, ラット), Hoch-Ligeti ら (1984年, マウス) の報告を見るに過ぎない。1-3-Butadiene, Captafol, 3-Methylcholanthrene, Urethane などの化学物質投与や放射線照射によりマウスの心臓に血管肉腫の発生が見られるが、報告は決して多くはない。心臓の血管内皮細胞増生についても、マウスの化学物質誘発性血管肉腫の初期病変として幾つかの報告があるが、人でも動物でも自然発生性心臓血管内皮細胞増生の報告は見当たらない。

本論文は、食品農医薬品安全性評価センターで過去7年間に使用した B6C3F₁ マウスの自然発生性心臓血管内皮細胞由来腫瘍と心臓血管内皮細胞増生の形態学的所見を記載し、血管内皮細胞増生の発生機転を考察したもので、論文内容を要約すると以下の通りである。

心臓原発の血管内皮細胞由来の腫瘍は、雄4,160例、雌3,910例中、5例に発見されたが、血液検査や肉眼所見では各症例に共通の所見は無かった。組織学的には良性血管腫2例(雄1:雌1)、血管肉腫3例(雄2:雌1)で、2例には骨髄、肝臓や脾臓にも血管内皮細胞腫と見なされる変化が観察され、全身性血管腫あるいは多発性血管内皮腫瘍とも診断されるものであったという。これら5例の血管内皮細胞腫瘍の腫瘍細胞は、いずれも von Willebrand factor やヒト血管内皮細胞を認識する抗体で陽性に染まり、Wheat germ agglutinin (WGA), Concanavalin A (Con-A) などのレクチンにも陽性反応を示し、血管内皮細胞由来が確認出来た。

心臓の血管内皮細胞増生は、雄4,160例、雌3,910例中、12例に観察された。全例雌で、雄には見出しなかった。この12例全てに乳腺腺癌が生じていた。共通の特徴として、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球数および血小板数が低値を示し、異常赤血球が出現していた。心臓は重量、直径ともに明かに増加し、組織学的には心臓全体に及ぶ広範かつ瀰漫性的な変化で、心筋細胞を取り囲む丸みを帯びたやや大型の核をもつ細胞が一層性の増生をしていた。脾臓、腎臓、肝臓にも血管内皮細胞の増数や核の増大、血管腔の拡張が見られた。心臓の増生細胞は Vimentin に陽性を示すほか、von Willebrand factor やヒト血管内皮細胞を認識する抗体、WGA, Con-A などのレクチンにも陽性を示し、電顕的にも自由縁の微絨毛様突起、小器官に乏しい細胞質、中間径フィラメント、細胞間のデスモソームや Tight junction, 辺縁ヒダの存在など血管内皮細胞の特徴を持つことを確認した。

化学物質誘発性心臓血管内皮細胞増生では、心臓以外には血管内皮の変化は無かった。組織学的に病変分布が局所性あるいは多局所性で、核は淡明で不正形を呈するものが多いこと、胞体はやや大きく細胞質内空胞をもつ細胞も観察されること、増殖性細胞核抗原陽性で、von Willebrand factor 陰性であったなどの点で自然発生性血管内皮細胞増生と相違していた。また、電顕的にも不整楕円形や不整立方形の細胞が多い

こと、核は輪郭の不整なものが多く、クロマチンが少ないこと、細胞小器官が比較的多く、大型の空胞も観察されること、細胞が重層性増殖する傾向があるなどの違いを認めた。この様にマウスの心臓に誘発される血管肉腫の前段階と見なされる化学物質誘発性血管内皮細胞増生と自然発生性心臓血管内皮細胞増生には形態学的に明かな違いがあり、自然発生性血管内皮細胞増生は前腫瘍性の病変とは異なるものと判断した。

自然発生性の心臓血管内皮細胞増生には、共通の肉眼所見として径15mm以上の乳癌の存在、心臓肥大、胸水貯留、脾臓肥大などが観察されたが、血管内皮細胞への血液動力学的作用の影響が原因となる可能性は乏しいとし、他臓器の血管内皮細胞にも同様な変化があり、血管内皮細胞の何らかの機能亢進に基づく形態学的変化であろうと考察している。

このように著者は、B6C3F₁マウスの心臓に自然発生した血管内皮細胞由来の腫瘍性病変および血管内皮細胞増生について、その病理形態学的な特徴、さらに血管内皮細胞増生では発生条件などについても検討し、従来の殆どが化学物質で誘発される血管肉腫やその前段階の病変とされる血管内皮細胞の増生以外に、自然発生性にも血管内皮細胞由来の腫瘍や血管内皮細胞増生が出現することを明らかにし、化学物質誘発性の前腫瘍性血管内皮細胞増生とはその病理発生が異なる新しい病態像であることを証明した。この新しく記述された病態の原因ははまだ不明であるが、本論文は病理学的に極めて興味深い事実を掘り起こし、新たな知見を加えた訳で、獣医病理学、毒性病理学の進歩に寄与し、博士（獣医学）の学位を授与するにふさわしい業績であると考えらる。