

平成18年12月

竹内英二 学位論文審査要旨

主 査 大 野 耕 策
副主査 長谷川 純一
同 北 野 博 也

主論文

Nitric oxide synthase activity in human thyroid papillary carcinomas

(ヒト甲状腺乳頭癌における一酸化窒素合成酵素活性の検討)

(著者：竹内英二、北野博也、藤岡秀行、戸田 昇、北島和智、岡村富夫)

平成13年9月 Acta Histochemica et Cytochemica 34巻 207頁～212頁

学 位 論 文 要 旨

Nitric oxide synthase activity in human thyroid papillary carcinomas

(ヒト甲状腺乳頭癌における一酸化窒素合成酵素活性の検討)

従来より癌と一酸化窒素(NO)との関連性について示唆する報告は認められるが、NOの甲状腺癌への関与を具体的かつ実証的に報告されたことはない。以前の研究で甲状腺乳頭癌において誘導型一酸化窒素合成酵素(iNOS)mRNA遺伝子が発現することを報告した。また、このiNOSはマクロファージからではなく癌細胞自体から産出されることを見いだした。本研究では、甲状腺乳頭癌組織のNOS活性を、高速液体クロマトグラフィーを用い生成したシトルリンを定量することにより間接的に測定した。また甲状腺乳頭癌における血管内皮型一酸化窒素合成酵素(eNOS)の発現を調べた。

方 法

(1) NOS活性の測定

対象は、甲状腺乳頭癌5例、良性甲状腺腫瘍5例、正常甲状腺組織5例である。

摘出組織を培養液に入れインキュベーションを行い、遠心後得られた上清から高速液体クロマトグラフィーを用いてシトルリンを分離、溶出し測定した。得られたシトルリンがNOSにより生成されたものかどうかは、NOSの特異的な阻害剤であるL-ニトロアルギニン(L-NA)で抑制されるか否かで検討した。もしNOS阻害剤で抑制を受ければ、そのシトルリンはNOSにより生成されたものと考えることができる。

(2) eNOSの発現

対象は、甲状腺乳頭癌4例、正常甲状腺組織3例である。

NADPHジアホラーゼ組織化学法および抗eNOS抗体による免疫組織化学法を用いて形態学的に検討した。またRT-PCR法を用いてeNOS mRNAの発現を調べた。

結 果

(1) NOS活性

甲状腺乳頭癌のシトルリン生成量は、正常甲状腺組織、良性甲状腺腫瘍と比較して有意に増加していた。その増加はNOS阻害剤で有意に抑制され、生成されたシトルリンはNOSに

より合成されたものと考えられた。甲状腺乳頭癌ではNOS活性は認められたが、良性甲状腺腫瘍、正常甲状腺組織ではNOS活性は認められなかった。

(2) eNOSの発現

NADPHジアホラーゼによる組織化学法では、正常甲状腺組織は濾胞細胞や血管内皮細胞にわずかに染まったが、甲状腺乳頭癌は血管内皮細胞に強く染色された。抗eNOS抗体による免疫組織化学法では、甲状腺乳頭癌の血管内皮細胞は正常甲状腺組織の血管内皮細胞より強く染色された。RT-PCR法では甲状腺乳頭癌においてeNOS mRNAの発現が認められた。

考 察

甲状腺乳頭癌においてiNOSの発現を認め、その大部分は癌細胞由来であった。さらに本研究ではeNOSの発現も認められ、それは血管内皮細胞に局在していた。また甲状腺乳頭癌のNOS活性は有意に高かった。これらの結果は、甲状腺乳頭癌におけるNOの関与を示唆するものである。しかしiNOSの甲状腺癌における役割、つまり癌に対して抑制的に働いているのか、あるいは浸潤、転移に対して促進的に働いているのかは、まだはっきりしていない。またeNOSは正常組織の血管内皮細胞にも発現しているが、甲状腺癌組織においてはより強くその発現を認めた。このことよりeNOSの役割は癌浸潤、進展時の血管新生に関与しているのではないかと推察された。

結 論

甲状腺癌におけるNOの存在が形態学および生化学的に証明されたが、さらにその役割についての解明が望まれる。