

平成23年2月

Brian Wasita 学位論文審査要旨

主査 大野 耕 策
副主査 中 島 健 二
同 渡 辺 高 志

主論文

A rat glioblastoma model with diffuse leptomeningeal gliomatosis induced by intracarotid injection of C6 glioma cells

(C6神経膠腫細胞の頸動脈内注入によるびまん性髄膜播腫を伴うラット膠芽腫モデル)

(著者：Brian Wasita、紙谷秀規、木下雄介、Mamun Mahabub Hasan、渡辺高志)

平成21年 Neurological Research 31巻 453頁～462頁

学 位 論 文 要 旨

A rat glioblastoma model with diffuse leptomeningeal gliomatosis induced by intracarotid injection of C6 glioma cells

(C6神経膠腫細胞の頸動脈内注入によるびまん性髄膜播腫を伴うラット膠芽腫モデル)

実験動物使用による再現性のある脳腫瘍モデルの作製は、腫瘍形成過程の研究や抗癌剤などによる腫瘍抑制効果の検討のために必要不可欠である。今回の研究において、C6神経膠腫細胞をラット頸動脈内に注入することにより、びまん性髄膜播種を伴う膠芽腫モデルの作製を試みた。

方 法

実験には体重250～300 gのウィスターラット（雄、20匹）を用いた。C6神経膠腫細胞（ $1 \times 10^7 / 100 \mu\text{l}$ ）を総頸動脈より注入してラット膠芽腫モデルを作製した。C6神経膠腫細胞注入後に毎日ラットの体重と身体的変化を調べた。またラットの生存期間についても検討した。ラットの脳は灌流固定した後に摘出した。摘出したラット脳の組織像を分析するためにヘマトキシリン-エオジン（H-E）染色を施行した。また腫瘍の生物学的特徴を検討するために、Ki-67、matrix metalloproteinase 2（MMP-2）やMMP-9の免疫組織学染色も施行した。

結 果

使用したウィスターラット20匹のうち、5匹は麻酔中やモデル作成過程において死亡したため、今回の研究において15匹のラットを用いて検討した。すべてのウィスターラットにおいて、 $1 \times 10^7 / 100 \mu\text{l}$ のC6神経膠腫細胞の注入により腫瘍の髄膜への浸潤が確認できた。これらのラットの身体的変化として、頭蓋内圧亢進、体重減少、悪液質などを認めた。また、平均生存期間は 18.0 ± 2.9 日であった。ラット脳内の腫瘍は、脳室全体から大脳半球、脳幹部の髄膜にかけて典型的な膠芽腫の組織像を呈して拡がっていた。免疫組織学的検討では、高いKi-67 labeling index（ $42.1 \pm 10.3\%$ ）を呈しており、またMMP-2とMMP-9も発現亢進しており増殖浸潤能や血管増生能の高さを窺わせた。

考 察

今回の研究で作製したモデルは再現性があり、膠芽腫髄膜播種患者においてみられる腫瘍の拡がり方に近似している。また膠芽腫の典型的組織所見である多形性、広範な有糸分裂像、偽柵状配列を伴った壊死像や内皮増殖を伴った血管増生などが髄膜播種病変に認められた。以上より、このモデルは高い増殖能や浸潤能、血管増生能を伴った高悪性度の腫瘍としての生物学的特性を備えていると思われる。また、脳に直接損傷を加えることなく腫瘍を形成することができるため、脳内腫瘍注入モデルにおいて注入路に沿って腫瘍細胞が拡がる欠点を回避することが出来る。さらに、化学療法や放射線療法、あるいは免疫療法や遺伝子治療などの新規治療法も含めて、その効果を検討するに十分な生存期間を有している。しかしながら肺や肝臓、腎臓など全身転移を発症しているラットも中には存在しており、治療効果を評価する上で影響を及ぼす可能性が考えられ、このモデルにおける今後の課題と思われる。

結 論

ウィスターラットにC6神経膠腫細胞を経動脈的に注入することにより、膠芽腫髄膜播種モデルを確立させた。このモデルは高い増殖能や浸潤能、血管増生能を伴った高悪性度の腫瘍の生物学的特性を有していた。新たな膠芽腫髄膜播種モデルとして、今後膠芽腫の進行過程を研究するために有用であると思われる。