

氏 名 小 柴 孝 友
 学位(専攻分野) 博 士 (医 学)
 学位記番号 医 博 第 2420 号
 学位授与の日付 平 成 14 年 1 月 23 日
 学位授与の要件 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
 研究科・専攻 医 学 研 究 科 分 子 医 学 系 専 攻
 学位論文題目 膵癌の浸潤転移における MMP-2 及びその他の浸潤関連因子に関する研究

論文調査委員 (主 査)
 教 授 千 葉 勉 教 授 武 田 俊 一 教 授 今 村 正 之

論 文 内 容 の 要 旨

癌の浸潤転移が成立するには基底膜が破壊され癌細胞が遊走することが必須である。基底膜破壊に関してはマトリックスメタロプロテアーゼ 2 (MMP-2) に、また膵癌細胞の遊走に関しては Stromal Derived Factor-1 (SDF-1) に着目し研究を行った。

切除後新鮮凍結標本として保存された膵癌切除組織のうち33例の膵癌組織、10例の正常膵組織、14例の膵癌細胞を含まない慢性膵炎組織をホモゲナイズしそれぞれのサンプルに対してゼラチンザイモグラフィを行った。検出した MMP-2 潜在型および活性型のバンドの intensity をデンストメーターで計測し MMP-2 活性化率を (66kDa MMP-2 活性型) / (66kDa MMP-2 活性型 + 72kDa MMP-2 潜在型) と定義した。その結果膵癌組織において MMP-2 活性化率は正常膵組織、慢性膵炎組織と比較し有意に高かった。そこで MMP-2 活性化と膵癌の浸潤転移との関連を見るために、各膵癌症例における膵周囲進展度 (pT)、所属リンパ節転移 (pN)、遠隔転移 (pM) の各因子と MMP-2 活性化率との相関について統計学的に検討し、さらに、切除後早期再発 (6 カ月以内) と MMP-2 活性化率との相関についても検討したところ、膵周囲高浸潤群 (pT3) の MMP-2 活性化率は膵周囲低浸潤群 (pT1) より有意 ($p < 0.05$) に高く、リンパ節転移群、遠隔転移群 (pN1, pM1) の MMP-2 活性化率はリンパ節、遠隔非転移群 (pNO, pMO) より有意 ($p = 0.0045$, $p = 0.0011$) に高かった。そして、切除後早期再発症例は非再発症例と比較して MMP-2 活性化率が有意 ($p = 0.035$) に高かった。これらの事実は膵癌の浸潤転移に、MMP-2 活性化が深く関与していることを示唆した。

さらに、癌の浸潤転移において癌細胞と周囲の間質細胞との相互作用が重要であることに注目し、間質細胞が分泌する CXC ケモカインの 1 つである SDF-1 の膵癌細胞遊走作用に関して、膵癌細胞株 (AsPC-1, BxPC-3, CFPAC-1, HPAC, PANC-1 の 5 株) と、新鮮凍結膵癌組織標本 8 例を用いて CXCR4 及び SDF-1 の mRNA 発現を RT-PCR 法で検討した。その結果 CXCR4 mRNA 発現は膵癌細胞株 5 株、膵癌組織 8 例の全てに認めた。一方で SDF-1 mRNA 発現は膵癌組織全例に発現を認めたが、膵癌細胞株にはその発現していなかった。このことは癌周囲の間質細胞より SDF-1 が分泌され CXCR4 を発現している膵癌細胞や血管内皮細胞に何らかの作用を及ぼしている可能性を示唆していた。そこで申請者は SDF-1 が膵癌細胞に対して遊走能を亢進させているのではないかと考えて、膵癌細胞株 AsPC-1 を用いて migration assay を行ったところ、SDF-1 添加により約 2 倍遊走能が亢進し、さらに膵癌細胞 CFPAC1 では線維芽細胞 MRC9 刺激により遊走能がほぼ 9 倍亢進した。CXCR4 antagonist T22 添加により MRC9 による遊走能亢進は抑制される傾向を認めた。以上の結果は、膵癌細胞が周囲の間質細胞の刺激により遊走能が亢進し、さらに SDF-1/CXCR4 システムが遊走能を増進している可能性が示された。

以上の研究は MMP-2 活性化が膵癌の浸潤転移に深く関与し、SDF-1/CXCR4 システムが膵癌の浸潤転移に関与している可能性を示した。

論文審査の結果の要旨

申請者は膵癌浸潤転移のメカニズムについて、基底膜消化に関するマトリックスメタロプロテアーゼ2 (MVP-2)、膵癌細胞の遊走に関する Stromal Derived Factor-1 (SDF-1) に着目し研究を行った。

まず膵癌切除後新鮮凍結標本に対してゼラチンザイモグラフィを行った。膵癌組織では正常膵組織、慢性膵炎組織と比較し MVP-2 活性化率が有意に高く、膵周囲高浸潤群、リンパ節転移群、遠隔転移群で MVP-2 活性化率が有意に高かった。次に CXC ケモカインの1つである SDF-1 の膵癌細胞遊走作用について検討したところ、膵癌細胞株5株、膵癌組織標本8例全例で CXCR4 mRNA 発現を認めた。SDF-1 mRNA 発現は膵癌組織全例に認められたが、膵癌細胞株では全例で認められなかった。また膵癌細胞株株 PC-1 は SDF-1 により遊走能が亢進し、膵癌細胞 CFPAC1 が線維芽細胞 MRC9 刺激により遊走能が亢進する事を示した。CXCR4 antagonist T22 は MRC9 による遊走能亢進を抑制した。

これらの事は MVP-2 活性化が膵癌の浸潤転移に深く関与し、さらに膵癌細胞が周囲の間質細胞の刺激により遊走能が亢進し SDF-1/CXCR4 システムが膵癌細胞の遊走面から膵癌の浸潤転移へ関与している可能性を示唆していた。

以上の研究は膵癌浸潤転移のメカニズムの解明に貢献し今後の膵癌治療戦略に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成13年12月3日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。