

[別紙 1]

論文の内容の要旨

論文題目 悪性黒色腫の増殖、血行性転移に関する研究

指導教官 玉置邦彦教授

東京大学大学院医学研究科

平成 10 年 4 月入学

医学博士課程

外科学専攻

氏名 帆足俊彦

悪性黒色腫はメラノサイト由来の悪性腫瘍で、水平増殖期(RGP; radial growth phase)、垂直増殖期(VGP; vertical growth phase)、転移期(metastatic phase)と段階的に進行していく性質を有する。特に RGP(-)悪性黒色腫は進行が早い。Matrix metalloproteinase (MMP)は亜鉛要求性酵素の 1 つで、結合織を分解する。さらに MMP に対して活性を阻害する、tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP)が同定されている。腫瘍の浸潤能に関して MMP は寄与し、TIMP は阻害するとされ、悪性黒色腫との関連でも種々の報告がなされている。しかしこれまで悪性黒色腫の同一患者での原発巣と転移巣の MMP や TIMP の発現を比較検討した報告はみられない。著者は 8 組の典型的悪性黒色腫（原発巣と転移巣）について MMP-1、MMP-2、MMP-7、MMP-9、TIMP-1、TIMP-2 発現の変化を免疫組織学的に検討した。さらに 3 例の amelanotic malignant melanoma (AMM)、5 例の desmoplastic malignant melanoma (DMM)についても検討した。その結果、悪性黒色腫の転移に伴い、MMP-1、MMP-2、MMP-7、TIMP-1 発現の増強が見られ、MMP-9 発現の減弱が見られた。特に早期転移例では原発巣、転移巣共に TIMP-1 発現が見られた。AMM では早期転移性典型的悪性黒色腫と同様の MMP、TIMP 発現がみられ、DMM では早期転移を起こした RGP(-)悪性黒色腫と同様の MMP、TIMP 発現が見られた。例外的に DMM の紡錐形腫瘍細胞で強い MMP-9 発現が見られた。

著者は種々の段階の悪性黒色腫培養細胞 8 株(原発巣由来 KHm-4、PM-WK、再発巣由来 RPM-EP,RPM-MC,リンパ節転移巣由来 MM-AN、

MM-BP、MM-RU、内蔵転移巣由来 MM-LH)を用いて TIMP-1、TIMP-2 mRNA および蛋白の発現を RT-PCR 法、Western blot 法、ELISA 法にて検討した。全例において TIMP-1、TIMP-2 mRNA および蛋白の発現がみられたが、原発巣由来 PM-WK においては TIMP-1 mRNA、蛋白いずれの発現もみられなかった。悪性黒色腫培養細胞の TIMP-1 産生量と細胞移動度が高い相関を示した。さらに外因性 TIMP-1、TIMP-2 に対する細胞増殖反応を検討した。TIMP-1 は原発巣由来 KHm-4、PM-WK、再発巣由来 RPM-EP、RPM-MC に対し細胞増殖活性を有し、TIMP-2 は再発巣由来 RPM-EP、RPM-MC、内蔵転移巣由来 MM-LH に対し細胞増殖活性を有することが示された。次に悪性黒色腫培養細胞に対し transforming growth factor (TGF)- β 1、interleukin (IL)-6、oncostatin M (OSM)で刺激を加え、TIMP-1、TIMP-2 産生量の変化を観察した。TGF- β 1 は MM-LH の TIMP-1、TIMP-2 産生を促進し、PM-WK の TIMP-2 産生を促進した。IL-6 は RPM-EP、MM-AN、MM-BP の TIMP-1 産生を促進し、MM-BP の TIMP-2 産生を促進した。OSM は MM-AN、MM-BP の TIMP-1 産生を促進した。

癌の血行性転移はいくつかの段階にわけて考えられているが、特に血管内皮への接着に注目した。血管内皮には E-selectin、P-selectin という細胞接着能をもつ接着分子が発現している。近年悪性黒色腫以外の癌で E-selectin、P-selectin の ligand が腫瘍細胞に発現し、転移に寄与している報告が見られる。著者は P-selectin の ligand の 1 つである P-selectin glycoprotein ligand-1(PSGL-1)に着目し、悪性黒色腫組織 8 組の悪性黒色腫組織（原発巣と転移巣。血行性、リンパ行性ともに含む）について PSGL-1 の発現を検討した。悪性黒色腫培養細胞 10 株(前述の 8 株に加えて原発巣由来 WM-115、リンパ節転移巣由来 WM-266-4)を用いて PSGL-1 mRNA および蛋白の発現を RT-PCR 法、Western blot 法にて検討した。全例で PSGL-1 mRNA の発現がみられた。RPM-EP、MM-BP、MM-RU、MM-LH では PSGL-1 蛋白の発現が認められた。免疫組織学的染色では悪性黒色腫の肝転移、肺転移に伴い PSGL-1 発現が増強していた。また、RGP(-)悪性黒色腫では原発巣で既に PSGL-1 発現が認められた。

以上のことから TIMP は悪性黒色腫に対し増殖活性を持つが、細胞により異なった増殖活性を有するといえる。TIMP は MMP 阻害剤として悪性黒色腫の浸潤能を低下させることができる。しかし TIMP は細胞によ

っては増殖活性をもつので TIMP と異なったメカニズムで MMP を阻害しないと逆に増殖を促進させてしまう。早期に転移の見られた悪性黒色腫、また RGP(-)悪性黒色腫で TIMP-1 の強い発現がみられた。TIMP-1 をマーカーとして早期転移の有無をある程度予測できると考えられる。転移性悪性黒色腫培養細胞、血行性による転移が疑われた悪性黒色腫転移巣で PSGL-1 の発現がみられた。臨床的には TIMP-1 を早期転移のマーカー、PSGL-1 を血行性転移ハイリスクのマーカーとして使うことが可能と思われる。