

審査の結果の要旨

氏名 須並 英二

本研究は、大腸癌治療に際して最も大きな問題の一つとなる血行性転移に関与するとされる各種因子の中で、細胞外マトリックスの破壊に関与するとされるマトリックスメタロプロテナーゼ(MMPs)に着目した。

まず第一に、大腸癌血行性転移に MMP-1 が関与するかどうかを、次に癌細胞における MMPs 産生に及ぼすトログリタゾン (TZD) の影響を明らかにし、更に細胞増殖や細胞接着など転移に関連するその他の因子に及ぼす TZD の抗腫瘍効果を明らかにすることを目的とし、以下の結果を得ている。

1. 大腸癌症例 133 例を対象とし、免疫染色を行い、MMP-1 の発現と血行性転移との関係に関して検討したところ、有意な相関が認められたが、深達度、リンパ管侵襲の有無、脈管侵襲の有無、リンパ節転移の有無そして Dukes 分類等の主要な臨床病理学的因子と MMP-1 の発現との間には相関は認められなかった。また、MMP-1 発現は血行性転移の独立した危険因子であることが判明した。
2. PPAR γ の発現を Western blotting および Flowcytometry にて検討したところ大腸癌細胞株は、その種類に応じて様々な程度で PPAR γ を発現していた。HT29, WiDr 及び Lovo は PPAR γ を高発現しており、CaR-1, DLD-1, Colo201, CaCO $_2$ において PPAR γ 発現はわずかであった。
3. 大腸癌細胞株 HT29 を用いてクローニングを行い、HT29 のクローンを 31 種類得ることができた。これらの中で clone 3 は PPAR γ 低発現株であり、clone 21 は PPAR γ 高発現株であった。今後の実験には、これら2つのクローンを使用した。
4. 各種濃度 (0, 1, 3, 10, 30, 50, 100 μ M) における TZD の大腸癌細胞増殖に対する影響を MTS assay にて検討した。PPAR γ 高発現株に対する抑制作用は低発現株のそれと比較し、明らかに強力であった。
5. PPAR γ 発現量の異なるクローンをを用いて TZD による刺激を行い、癌細胞における MMP-7 産生量の変化を比較検討したところ、PPAR γ 高発現株においては 93%、PPAR γ 低発現株においては 75%、それぞれ抑制されていた。その他の MMP-1、MMP-2、MMP-9 に関しては、明確な変化は認められなかった。これらの変化は同様の結果が gelatin zymography にても観察された。

6. PPAR γ 高発現株はラミニン、I 型コラーゲン、IV 型コラーゲンに強く接着したが、TZD の処理によって、これら ECM への接着は濃度依存性に抑制された。PPAR γ 低発現株は、ラミニン、I 型コラーゲン、IV 型コラーゲンに強く（全て 80%程度）接着したが、フィブロネクチンに対する接着は弱かった（約 10%）。しかし、TZD 処理によって、これら ECM への接着はほとんど抑制されなかった。

以上、本論文では、MMP-1 の発現は大腸癌の血行性転移と相関し、その他の臨床病理学的因子とは全く独立した因子であることが明らかとなった。これにより、MMP-1 の発現程度を評価することが、大腸癌術後のフォローアップをより綿密なものにする必要のある症例、術後抗癌剤をより積極的に投与する必要のある症例等を選別するための基準の一つとして利用できる可能性が示唆された。

更に、大腸癌細胞株における PPAR γ の発現を明らかにし、TZD は濃度依存性に細胞増殖抑制効果を示すこと、MMP-7 産生を抑制すること、細胞外基質に対する接着能を抑制することを明らかにした。増殖、浸潤、接着といった腫瘍細胞の機能は、癌が発育し、転移していく過程において重要不可欠な機能であるため、これらに対する TZD の抑制作用は癌の発育進展の抑制につながると考えられ、TZD の抗腫瘍薬としての可能性が示した。

これらの点から本論文は学位の授与に値するものと考えられる。