

氏名・(本籍)	竹 葉 智 至 (京都府)
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	博士 第237号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成9年3月24日
学位論文題目	Stromal Expression of MMP-9 and Urokinase Receptor is Inversely Associated with Liver Metastasis and with Infiltrative Growth in Human Colorectal Cancer : A Novel Approach from Immune/Inflammatory Aspect (ヒト大腸癌間質におけるMMP-9およびuPARの発現は肝転移および癌先進部浸潤性増殖と逆相関する：免疫炎症現象からの新しい考察)
	審査委員 主査 教授 服 部 隆 則 副査 教授 小 玉 正 智 副査 教授 馬 場 忠 雄

## 論文内容の要旨

### 【目的】

癌間質には種々の炎症免疫細胞浸潤が見られる。大腸癌先進部間質には顆粒球、マクロファージ、リンパ球を中心に著明な反応がみられ、その浸潤と患者の予後の間に正の相関があり、炎症免疫細胞浸潤が、癌の進展を抑制している可能性が示唆される。一方、癌の浸潤転移は患者の予後を規定し、その成立は癌細胞の原発巣よりの遊離から標的臓器への生着まで、複雑なstepを経る。細胞外器質を分解する蛋白分解酵素はこのstepで働き、癌浸潤転移と密接な関連があるとされている。特にマトリックス・メタロプロテアーゼ (MMP) の一種gelatinase Bやマトリックス・セリンプロテアーゼ (MSP) の一種のplasminの活性化を促進するurokinase receptor (uPAR) は癌浸潤転移を促進するとされている。一方これらの大腸癌における主たる産生細胞は、癌先進部間質に浸潤した顆粒球、マクロファージなど炎症免疫細胞であり、炎症免疫細胞浸潤が予後と正の相関が見られるという報告と相反する。このように大腸癌先進部間質の炎症免疫細胞は、癌先進部への浸潤といった側面と、蛋白分解酵素などの産生といった側面からの検討でその働きが全く異なる。この矛盾を解決するため、ヒト大腸癌間質組織におけるgelatinase B、uPAR、マクロファージ (CD68の発現) の発現を定量化し、また炎症病態で発現されるMMPの一種MMP-8の発現を比較検討した。

### 【方法】

ホルマリン固定、パラフィン包埋のヒト大腸癌切除例121例 (肝転移例38例、リンパ節転移のみ陽性例41例、転移陰性例42例。先進部癌細胞浸潤様式、infiltrating群22例、Expanding群99例。癌先進部リンパ球浸潤度、inconspicuous群31例、conspicuous群90例)。一次抗体として抗gelatinase B ポリクローナル抗体、抗uPARモノクローナル抗体、抗CD68モノクローナル抗体、抗MMP-8ポリクローナルを用い酵素抗体間接法にて染色。

gelatinase B発現の定量化は、癌先進部間質における0.0625mm<sup>2</sup>当たりの陽性細胞数で、uPAR発現の定量化は全癌先進部におけるuPAR陽性癌先進部の割合にて表した (uPAR陽性先進部率)。またCD68陽性細胞数もgelatinase Bと同様の方法で定量化した。

### 【結果】

gelatinase B、MMP-8は癌先進部を取り囲む間質に浸潤する顆粒球、マクロファージに発現し、癌細胞は陰性。uPARも癌先進部を取り囲む間質にびまん性に発現し、顆粒球、マクロファージが陽性。一部の症例では癌細胞にも発現。CD68陽性細胞も癌先進部を取り囲む間質に集簇して発現。

癌先進部間質のgelatinase B 陽性細胞数は肝転移例において、リンパ節転移のみ陽性例、転移陰性例に比べ有意に低値。癌先進部間質のuPAR陽性先進部の割合も肝転移例にて有意に低値。癌先進部間質のCD68陽性細胞数も肝転移例において有意に低値。また癌先進部infiltrating群、リンパ球浸潤度inconspicuous群においてgelatinase B、uPAR,CD68とも有意に低値。癌細胞からのuPARの発現は肝転移例で有意に高値。

#### 【考 察】

gelatinase BやuPARは癌浸潤転移を促進するとされているが、ヒット大腸癌組織内におけるこれらの分布発現を定量化した報告はない。今回、gelatinase B、uPARの癌先進部における発現を定量化したところ、これらの発現は肝転移例など予後不良例で低下しており、癌の浸潤転移を促進するという従来の報告と相反する結果を得た。

一方、癌先進部には種々の免疫炎症細胞浸潤がみられ、特に大腸癌においてはこれらの浸潤の著明な例ほど予後が良好であることが報告されている。このことは生体の炎症免疫反応が癌に対し抑制的に作用している可能性を示唆している。またT細胞は、それ自身がuPARを発現し、マクロファージと接着することにより、マクロファージからのgelatinase Bの産生を促進することが報告されており、uPARやgelatinase Bが炎症免疫反応一般に関与していることは明らかである。この観点から考察すると、gelatinase B、uPARがともに癌先進部に浸潤するマクロファージ、顆粒球など炎症免疫担当細胞より発現し、炎症性病態で発現されるMMP-8と同様のパターンであること、肝転移例など予後不良例にて発現は低下していることより、大腸癌先進部における、gelatinase B、uPARの発現は癌に対する炎症免疫反応の一環として発現しているとも考えられる。また、大腸癌先進部にはdesmoplastic reactionがみられ、生体の癌に対する反応—物理的な障壁と考えられる。この部位ではcollagenの産生破壊も亢進し、gelatinase Bなど蛋白分解酵素がcollagenのturn overに作用していると考えられる。癌浸潤転移を促進するとされてきたgelatinase B、uPARであるが、生体側の発現は、生体の癌に対する炎症免疫反応—防御反応の可能性が示唆された。しかしuPARの癌細胞よりの発現は肝転移と相関し、gelatinase Bに関しても乳癌などで癌細胞からの発現が知られている。即ちgelatinase B、uPARは、その発現が生体由来か、癌細胞由来かにより働きの異なることが示唆された。

#### 【結 論】

大腸癌先進部間質におけるgelatinase B、uPARは生体の癌に対する炎症免疫反応の一環として発現していることが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

癌の浸潤転移では細胞外基質分解酵素が重要な役割を果たしているが、本研究は、大腸癌の癌先進部間質におけるMMP (matrix metalloproteinase) - 9 (gelatinase B)、MMP-8 (polymorphonuclear leukocyte collagenase) さらにuPAR (urokinase-type plasminogen activator receptor) の発現、およびCD68陽性マクロファージの分布を免疫組織化学的手法で調べ、組織標本上で定量化するとともに、それらを癌先進部の浸潤形態 (高度浸潤様式と膨張性浸潤様式)、炎症細胞の浸潤程度 (高度と低度)、さらに肝血行性転移の有無との相関を比較検討したものである。

その結果、MMP-9、MMP-8とuPARは主として癌先進部間質の免疫炎症細胞に発現しており、発現程度は高度浸潤様式群と肝転移群において有意に低値で、これらの症例では先進部でのマクロファージとリンパ球の浸潤が低度であった。一方、uPARは先進部の癌細胞においても発現しており、発現程度は肝転移群で有意に高値であった。これらの所見から、大腸癌先進部における細胞外基質分解酵素の産生は、免疫炎症細胞による生体反応の一環であり、反応の強い場合には癌浸潤に対して抑制的に働くと考えられたが、一方で、癌細胞からのuPA産生は癌浸潤転移に促進的に働いているとも考えられた。この結果は、癌における細胞外基質分解酵素の発現が生体に対し

て二面性をもっていることを明らかにしたもので、博士（医学）の学位論文として価値あるものと認められる。