(17)

氏名(生年月日)　齊藤　正行（サイトウ　マサユキ）
本　　籍
学位の種類　博士（医学）
学位授与の番号　乙第1921号
学位授与の日付　平成11年4月16日
学位授与の要件　学位規則第4条第2項該当（博士の学位論文提出者）
学位論文題目　**胃癌原発巣と所属リンパ節におけるMMP-2，TIMP-2遺伝子の発現に関する研究**
論文審査委員　（主査）教授　高崎　健
（副査）教授　小林　槇雄，香川　順

論文内容の要旨

〔目的〕

がんの浸潤・転移には，周囲組織の基底膜や結合組織の破壊が不可欠である．これら細胞外マトリックスを破壊する酵素がmatrix metalloproteinases (MMPs)で，これまでに少なくとも11種類のMMPが知られている．なかでも，IV型コラーゲンを分解する72 kDa type IV collagenase (MMP-2)は，がんの進展に関連するとの報告が多い．他方，MMPsの酵素活性はtissue inhibitor of metalloproteinases (TIMPs)という特異的なインヒビターで阻害される．現在，3種類のTIMPが同定されているが，TIMP-1やTIMP-2でがん細胞による基底膜の破壊が抑制されるとの実験成績があり，そのがん細胞における発現レベルと転移能は逆相関するといわれる．このように，がんの浸潤・転移にはMMPsやTIMPsの関与が予測されるが，リンパ行性転移との関連をみた報告は少ない．そこで本研究では，胃癌原発巣と所属リンパ節におけるMMP-2およびTIMP-2遺伝子の発現をreverse transcripted-polymerase chain reaction (RT-PCR)法で検索し，その発現状況やリンパ節転移との関連を検討した．

〔対象および方法〕

対象は，切除進行胃癌42例である．その原発巣切除組織からがん先進部，非がん部粘膜（正常粘膜）を採取し，22例については所属リンパ節も採取した．そして，これら組織のMMP-2およびTIMP-2 mRNAの発現を検索した．

方法は，各組織をホモジナイズしてcesium chloride ultracentrifugation法で細胞内のRNAを抽出し，逆転写酵素反応でそのcDNAを合成した．ついで，MMP-2，TIMP-2のプライマー（MMP-2；611 bp, TIMP-2；485 bp)を用い，cDNAを試料としてDNA thermal cyclerを用いてPCR法で増幅した．得られたPCR産物を電気泳動して特異的なバンドを検出し，mRNAの発現の有無を判定した．

〔成績〕

原発巣について，42例のうち，MMP-2 mRNAの発現はがん部では39例（92.9%），非がん部では27例（64.3%），TIMP-2 mRNAの発現は各32例(76.2%)，42例（100.0%）みられ，前者はがん部で，後者は非がん部で有意に高率であった(各$p<0.01$)．胃癌組織は，その間質も含めて多量のMMP-2を産生するが，TIMP-2の産生は少ないと解釈できる．そこで，リンパ節転移と両者の発現との関連をみたところ，転移陽性例のがん部ではMMP-2 mRNAは過剰発現し，TIMP-2 mRNAの発現は低下して両者のアンバランスがみられた．転移陰性例のがん部ではMMP-2 mRNAは高発現していたがTIMP-2 mRNAの発現は保たれ，陽性例のようなアンバランスはなかった．また，非がん部は陽性例，陰性例ともTIMP-2が優位で，MMP-2は抑制された状態であった．さらに，胃癌原発巣と転移陽性リンパ節を比較すると，MMP-2 mRNAの発現はリンパ節，原発巣とも全例にみられ差はなかったが，TIMP-2 mRNAの発現は原発巣に比べリンパ節ではさらに低下していた．

〔考察および結語〕

胃癌原発巣におけるMMP-2，TIMP-2 mRNAの発

現は胃癌のリンパ節転移につよく関連し，その形成には，間質も含めた胃癌組織における①MMP-2の多量の産生，②MMP-2の過剰発現・TIMP-2の発現低下という両者のアンバランスなどが重要な促進因子と考えられた．さらに，リンパ節転移巣の浸潤・転移能は，原発巣よりも高いことが示唆された．

論 文 審 査 の 要 旨

癌の転移のメカニズムをダイナミックな観点で検討しようとした研究である．既存の組織を破壊して転移巣が成長するためのステップとして基底膜を破壊するMMPsの作用が必要であるが，一方この作用を抑制するTIMPsの存在も関連してくる．この研究では人の胃癌切除材料を用いて転移との関連について，この両者の遺伝子発現を検索したものである．結論としては転移巣においてはTIMPsの減少と相対的なMMPsの過剰が認められた．

このような知見も癌の転移の機序を解明して行くための一つの事実の積み重ねの意義はあると認められた．

主論文公表誌

胃癌原発巣と所属リンパ節におけるMMP-2, TIMP-2遺伝子の発現に関する研究

日本外科系連合学会誌　第23巻　第5号　772-779頁（平成10年10月25日発行）斎藤正行，三浦一浩，小川健治

副論文公表誌

1) 胃癌組織におけるMMP-2およびTIMP-2遺伝子の発現とリンパ節転移について．癌の臨　44(12)：1529－1534(1998)小川健治，三浦一浩，勝部隆男，今野宗一，野村芳樹，濱口佳奈子，斎藤正行，成高義彦，矢川裕一，梶原哲郎

2) 胃静脈瘤出血に対する緊急内視鏡的硬化療法—とくにHistoacryl法の手技と臨床的有用性について—．東女医大誌　68(11・12)：873-878(1998)成高義彦，小川健治，島川　武，我妻美久，野村芳樹，濱口佳奈子，村山　実，斎藤正行，今野宗一，勝部隆男，梶原哲郎