

氏名	原 田 富 嘉
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	医博第 2087 号
学位授与の日付	平成 11 年 3 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	Membrane-type matrix metalloproteinase-1(MT1-MMP) gene is overexpressed in highly invasive hepatocellular carcinomas. (高浸潤性肝細胞癌における膜型マトリックスメタロプロテナーゼ-1 (MT1-MMP) 遺伝子発現について)
	(主査)
論文調査委員	教授 野田 亮 教授 藤田 潤 教授 今村正之

### 論 文 内 容 の 要 旨

癌の浸潤転移において、細胞外マトリックスの分解は必須の過程である。マトリックスメタロプロテナーゼ (MMP) は細胞外マトリックスを分解する事で知られているが、中でも基底膜の主成分であるIV型コラーゲンを主に分解するMMP-2, 9が、癌の転移に強く関わるという報告がある。教室では有井らにより、既にMMP-9が肝細胞癌の浸潤性に関与する事を報告した。

1994年、マトリックスメタロプロテナーゼファミリーの一つとして膜型MMP-1 (Membrane-type 1 MMP, MT1-MMP) が同定され、潜在型MMP-2を活性化することで注目されている。本研究ではMT1-MMPの発現動態をヒト肝細胞癌切除標本を用いて、ノーザンブロット法、免疫組織染色、及びin situ hybridization法にて解析し、その臨床病理学的意義を検討した。

肝細胞癌25症例の癌部及び非癌部よりpoly(A)<sup>+</sup>RNAを抽出しMT1-MMP cDNA probeを用いてノーザンブロット法を施行した。mRNA発現量はデンスitomーターにて測定し、internal controlとして用いたs26 ribosomal protein mRNA発現量との比にて定量化した。その結果、癌部では全例にて、非癌部では22/25例にてMT1-MMP mRNA発現を認めた。発現陽性例では21/25例で癌部>非癌部であった。癌部における発現量 (T) と非癌部における発現量 (N) の比 (T/N) をとり、臨床病理学的因子との相関を検討したところ、被膜浸潤陽性例、 $6.01 \pm 1.23$  : 陰性例、 $0.85 \pm 0.13$ で、被膜浸潤陽性例で有意に高値を示した ( $p < 0.05$ )。以上よりMT1-MMP mRNAは肝細胞癌において癌部での発現増強を認め、その発現は被膜浸潤と関連することが示された。

次にMT1-MMP mRNAを発現する細胞を同定するため、RNA probeを用いてin situ hybridizationを施行した。シグナルは癌細胞と間質細胞に認められ、その発現は癌の先進部ほど著明であった。

MT1-MMPは、潜在型MMP-2と結合し、これを活性化型に変換するとの報告がある。このことを検証する目的で、MMP-2 mRNA発現を、in situ hybridization法にて検討し、MT1-MMP mRNA発現と比較した。その結果、MMP-2 mRNAが癌細胞と間質細胞に発現しており、その局在がMT1-MMP mRNA発現と極めて類似していることが明らかになり、両者が協調して作用していることが示唆された。

さらに、蛋白の局在を明らかにする目的で、ABC法にて抗MT1-MMPモノクローナル抗体を用いて、免疫組織染色を施行した。その結果、in situ hybridizationの結果と同様に、癌細胞と間質細胞がともに染色され、その程度は癌の先進部ほど強いことが示された。

以上の結果より、肝細胞癌症例では、癌部において、MT1-MMP mRNA発現が増強しており、その発現は被膜浸潤陽性例に多く、発現の主体は癌細胞のみならず、間質系の細胞にも見られることが明らかになった。

本研究は、肝細胞癌においてMT 1-MMP mRNAが発現しており、浸潤性と関連すること、そしてその産生主体が癌細胞及び間質細胞であることをはじめて明らかにしたものである。

#### 論文審査の結果の要旨

MT 1-MMPは、潜在型MMP-2を活性化することで注目されている。本研究ではヒト肝細胞癌におけるMT 1-MMP発現を解析し、その臨床病理学的意義を検討した。

肝細胞癌25症例の癌部及び非癌部よりpoly(A)<sup>+</sup>RNAを抽出しノーザンブロット法を施行したところ、癌部では全例に、非癌部では22/25例にMT 1-MMP mRNA発現を認めた。発現陽性例では21/25例で癌部>非癌部であった。被膜浸潤陽性例では非癌部に比して癌部におけるmRNA発現が有意に増強していた ( $p < 0.05$ )。In situ hybridizationを施行したところ、シグナルは癌細胞と間質細胞に認められ、その発現は癌の先進部ほど著名であった。MMP-2についても、In situ hybridizationを施行したところ、その発現はMT 1-MMP mRNA発現と極めて類似していた。免疫組織染色では、癌細胞と間質細胞がともに染色され、その程度は癌の先進部ほど強かった。

以上の研究は、肝細胞癌においてMT 1-MMPが発現しており、その発現が浸潤性と関連すること、そしてその産生主体が癌細胞及び間質細胞であることをはじめて明らかにしたものであり、医学の発展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11年1月22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。