

討 論

工藤隆一(札幌医大)：細胞の接着能と浸潤能に関係する MMP 産生能は同一時点の事象でないと思う。我々は細胞接着能が低下しているものは MMP 活性が強いことを見出している。先生は接着能と MMP が亢進するということをどのように説明するのか。

嘉村敏治：癌細胞の浸潤能は Liotta et al. の提唱するように基質接着能、蛋白融解能、細胞運動能の総和として表現される現象と考えられる。今回はこの三つの形質に関して検討したが、当然これらの形質が発現する前には癌細胞同士の接着が低下するという現象が生ずるものと考えられる。工藤先生はその細胞同士の接着能の低下と蛋白融解酵素のなかの MMP の増強に関連を見出されているが、今回我々が報告した基質との接着能の増強と MMP の亢進については、基質との接着がトリガーとなって蛋白融解能が増強するという知見についてすでにいくつかの報告があり、このことは浸潤という現象に対しては合目的的であると考ええる。

佐藤和雄(日本大)：抗癌剤によっていわゆる耐性といわれるようなクローンが選択されるということだと思いますが、そのような点からは臨床的に抗癌剤を用いる注意はどのようにすればよろしいか。(先生の考えを進めると抗癌剤による癌治療に限界があることになるでしょうが、その点の解決として多剤併用以外の何かよい考えはあるのでしょうか。)

嘉村敏治：今回の研究では、薬剤による選択ではなく、DNA を傷害する抗癌剤は遺伝子変異を惹起し、新しい形質をもった癌細胞が生じ、その中でも一番悪性度が高い細胞が宿主により選択されて優位なクローンになることが示唆された。卵巣癌の治療法として手術療法と化学療法しか有効な治療手段をもたない現況では、DNA をターゲットとしないで例えば蛋白をターゲットにする抗癌剤を開発することや、現化学療法に転移能を抑制する薬剤、今回のシンポジウムで他の演者が報告した薬剤等を併用していくことが考えられ

る。

坂元秀樹(日本大)：シスプラチンによる癌細胞の染色体異常の発生に host が介在しなければならない理由は何か。

嘉村敏治：シスプラチンが DNA 傷害作用を有することは周知の事実であり、宿主が介在しない in vitro でも当然癌細胞の遺伝子、染色体に異常を惹起せしめることは当然のことである。しかしながら本研究の仮説は、癌細胞と宿主があって初めて生ずる浸潤・転移という現象に影響を与える遺伝子変異が、実際に担癌個体でシスプラチンによって引き起こされるかどうかということである。そこで host の介在は本テーマを論じるうえで必須である。

澤田益臣(大阪大)：① 親株に比べて移植を繰り返した株の方が肺転移能が亢進している結果をお示し頂きましたが、この結果はどのように理解するとよろしいか。

② CDDP 20mg/kg を i.p. した際の組織に対する effect (腫瘍内 CDDP 濃度) 等の基礎的 data をお示し頂かないと細胞に対する CDDP の影響の結果とは考え難いのではないかと？

嘉村敏治：① 今回の実験モデルにおいてヌードマウス内で移植を繰り返した癌は、移植されている期間中にやはり遺伝子不安定性により自然に遺伝子変異が生じその中から悪性度が高いクローンが宿主により選択され優位になってきていると考えられる。一方親株は in vitro で継代されている癌細胞であり、その中には宿主内で高い悪性度を発揮する細胞が生じていないことが考えられる。そこで肺転移能に関しても、移植のみの株でも親株より高いという結果が得られたものと考える。

このことは癌の悪性度の進展を論じる場合は、必ず宿主の生命に対しての悪性度を評価していくべきであり、in vitro のみでは論じることができないということを示している。

② 今回の実験では化学療法が宿主に与える影響は検出していない。なぜならば、今回のシステムは癌にフォーカスをあてた実験系であり、移植癌に対しシスプラチンを投与し、24時間後に腫瘍を摘出して次のマウスに継代しているからであ

る。勿論、化学療法がもたらす宿主の変化も浸潤・転移に影響を及ぼすと考えられる。それについては今後検討していくつもりである。

加藤 紘 (山口大) : シスプラチンでなくとも DNA に変化を起こす状態があれば腫瘍の浸潤・転移能が増強されるのであると解釈してもかまいませんか。

嘉村敏治 : シスプラチンに限らず、DNA に傷害を与える薬剤であれば癌細胞に遺伝子変異を惹起せしめ、その結果として今回の研究で示唆した一連の現象が生じ、生き残った癌は悪性度が高い。すなわち浸潤・転移能が高い癌細胞からなる癌に変化していく可能性がある。我々はエンドキサンでも同様の傾向があることを確かめている。

加藤 紘 : シスプラチン等による転移能増加が、遺伝子の at random な損傷によるものであれば確率的にあまり恐れるに足りないが、腫瘍細胞が意識的にその方向に変化したのであれば恐ろしいことであるので、確率的な成績も含めてまた御教示下さい。

嘉村敏治 : 化学療法剤の作用はあくまでも殺細胞効果であり、その手段として DNA をターゲットとするものであれば、重要な遺伝子に傷害が生じ死滅する細胞、遺伝子変異が生じ新しい細胞として生まれ変わったものなどが、御指摘のようにランダムに生じると考えられる。後者の細胞の中にも宿主の防御機構により排除されるものと、打ち破るものがある。この宿主の防御機構を打ち破ったものは、同期間に自然に生じた遺伝子変異によって変化した細胞が有する悪性度よりも格段に高い悪性度を示したことを今回の研究で報告した。そこで腫瘍細胞が意識的に転移能を変化させたのではなく、シスプラチンによりランダムに悪性度が高い細胞が生み出されたと考える。intratumor ではその確率については、分からないが、intertumor では進行卵巣癌の70~80%が再発しており、少なくともその頻度で悪性度の高い癌への変化が生じていることが想定される。

坂元秀樹 : ① Seed and Soil theory について

② リンパ節内における癌細胞についての知見

嘉村敏治 : ① 転移臓器の腫瘍による特異性の尤もらしい説明として、Seed and Soil theory と

Anatomical and Mechanical Theory が現在提唱されている。どちらが正しいということよりも、原発臓器あるいは組織型によりどちらかの theory で説明できるかということが、治療戦略を考えるうえで重要である。

② 今回の各演者は血行性転移を想定して研究を行っている。今回得られた知見のいくつかはリンパ節内の癌細胞にも認められるものであるかもしれないが、検討を行っていない。

武谷雄二 (東京大) : 癌は一般には無秩序な増殖ということで特徴づけられているが、増殖と浸潤能との間に相互関係があるのか？ 増殖が旺盛だと、当然細胞外基質や cell adhesion molecule にも影響が及ぶであろう。両者の cross talk はいかがか。もしなければ両者は独立し両者の異常がないと癌化は成立しないことになるが。

嘉村敏治 : 今回の研究では転移能の増強には増殖能の増強を伴っておらず、浸潤能が増強していた。そこで転移能を規定する増殖能と浸潤能は癌にとって独立した形質かもしれない。

癌細胞の目的は浸潤転移ではなく無限の増殖であると考えられる。その能力を獲得する過程が癌化であり、より増殖しやすい環境に移動していくという現象が浸潤転移であろう。原発巣で増殖可能であれば転移する必要はなく、そのことは原発巣が大半の症例において最大の腫瘍を形成することによっても示されている。

そこでは増殖能と浸潤転移能は必ずしも従属関係にある形質でなくてもよいと考えられる。

藤本次良 : 先生のおっしゃる通りで、当然 cross talk はあってしかるべきと思います。本シンポジウムでは、むしろ解離するところを強調してお話しました。すなわち、progestin の抗腫瘍効果と progestin の (estrogen が誘導する) 転移に関与するシグナルの抑制効果とは必ずしも細胞内で同調しないことを報告しました。また、体癌における estrogen 誘導遺伝子である c-fos, c-jun, c-Ha-ras は、progestin で抑制できません。したがって、より癌にとって本質的な癌遺伝子の発現は、progestin の影響を受け得る転移関連遺伝子の発現と解離があるようです。このような解離をうまく利用して治療ができればと考えておりま

す。

吉川史隆：癌細胞の最大の特徴は無限増殖することは衆目の一致する考えです。増殖し細胞数が増加していく過程で癌細胞は頻繁に遺伝子変異が生じ、浸潤・転移能を獲得した細胞が出現すると考えられます。したがって、増殖と浸潤能とはお互いに独立した性格ではありますが、浸潤能が乏しい癌細胞では周囲組織の物理的障害のため増殖も抑えられると思います。浸潤能を獲得していない癌は、例えば子宮頸癌の上皮内癌や子宮体癌のIa症例などは癌ではあるけれども救命し得る訳です。すなわち、臨床面からみると浸潤・転移能を獲得した癌こそが脅威であり、治療法を含めて今後の研究の課題であると思います。

小林 浩：私個人の考えは癌の増殖能と浸潤能は別々に切り離して考えたいと思います。tumor-igenicityが激しくても転移しない癌細胞もあればその逆も十分あり得ると思います。ヒト癌はそのheterogeneityのため治療が困難なのかも知れません。しかし、両者のcross talkは必ずあり、癌細胞の置かれた環境の違いにより増殖能と浸潤能のどちらが優位になるのか決まるのではないのでしょうか。

加来恒壽(九州大)：子宮内膜癌においてエストロゲンとの関連から高分化型と低分化型との二つに分けられるとの発表内容ですが、これらの二つの群に対して癌の治療の個別化との観点から、臨床的にもこれらの知見を治療のうえでどのように生かしたらよいかお教え頂きたい。

藤本次良：婦人科癌の転移のステップのうち特に血管新生のステップに関して、高分化型体癌細胞と低分化型体癌細胞に大別し、basic FGFの分泌抑制を介した血管新生の抑制の方法と理論的裏付けについてお話をしました。临床上遭遇する体癌にはそのポピュレーションの違いこそあれ、高分化型や低分化型の体癌細胞が混在しているし、特にいわゆるホルモン療法中に細胞選択や細胞自身の変化がありますので、あまり詳細な個別化にこだわらないで、大まかな個別化によるprogesterinとTNP470の併用療法が適切であろうと考えております。

加藤順三(帝京平成大学情報学部)：① ER 変

異株で、exon 7欠失 ER 株などの変異株についてはどうでしょうか。

② PR A と PR B との比の変異が、体癌の低分化型がんで多くみられることから癌の進展への関与を一昨年の本学会の特別講演で報告しましたが、体癌で A/B 比の変異と組織分化度との関係についてお教え下さい。

藤本次良：① estrogen receptor (ER) の splicing variant (SV) のうち dominant positive であるものは、exon 5 (E5) 欠失の ERE5SV のみで、他の ERSV の多くは dominant negative ですから、先生の御質問の ERE7SV の転移巣での検討はしておりません。

② PR B 型優位の発現が、卵巣癌の場合(原発巣で)臨床進行度と関連が深いという報告はすでにしておりますが、体癌に関しては、その時同時に検討しました原発巣11例では先生の期待されている分化度との関連で明確な差がありませんでした。本シンポジウムでお示ししました原発巣と転移巣が揃っている症例は8例でしたので、やはり結論を出すには時期尚早と思われます。今後も検討を重ねたいと思います。

寺川直樹(鳥取大)：進行子宮体癌に行われる progestin 療法の根拠を癌細胞の遊離、浸潤、bFGF の発現抑制の面から見事に証明された訳ですが、低分化癌に対する血管新生阻害剤 TNP-470 の有用性を提唱された根拠を示して頂きたい。

藤本次良：本シンポジウムでは、低分化型体癌細胞の basic FGF の発現と分泌およびその mRNA の発現を TNP-470 が抑制することをお話しました。TNP-470 はホルモン抵抗性をもつようになった前立腺癌細胞 PC3 や乳癌細胞 MDA-MB-231 のヌードマウス移植腫瘍の増殖抑制に効果がありました。このことが、低分化型体癌にも当てはまればと考えております。

安水洗彦(山梨医大)：① Angiostatic steroid の臨床応用として、1970年代後半～80年代前半に Folkman et al. によって、かなり広汎に研究されているがその結果はあまり芳しくない。先生の成績と彼らの成績との差異はどのような点があるのでしょうか。

② FGF-2 (basic FGF) は生体における生命維

持因子であるが、悪性腫瘍においてはさまざまな protooncogene 由来の heparin-affinity GF (FGF 様物質)が dominant であるという報告がある。婦人科癌では FGF-2が dominant とする根拠は何か。

藤本次良：① Folkman は血管内皮細胞に対する直接的効果を論じており、tetrahydrocortisol, hydrocortisone, 17 α -hydroxyprogesterone は、血管新生抑制作用があるが、progesterone にはこの効果が全くないことを報告し、angiostatic steroids の概念を提唱しました。今回、私達の報告の骨子は、癌細胞の増殖抑制に関連なく、癌細胞を介した血管新生抑制で Folkman の発想と根本的に違います。すなわち、その一つの例証として、本シンポジウムでは、progestin すなわち天然の progesterone でも合成 MPA でも同様にある種の体癌細胞の basic FGF の分泌が抑制できることをお話ししました。

② 腫瘍においてどのシグナルが dominant であるかを証明するのは、かなり困難なことです。例えば、あるシグナルを抗体等で抑制すると alternative に別のシグナルが dominant になることが予測されます。少なくとも FGF isoform 中では、体癌の臨床検体からの検討でも basic FGF が dominant であることはすでに報告しております。現在までの結果から、ある程度の推論をお許し頂ければ、癌細胞による血管新生において basic FGF は基礎シグナルで、VEGF は何らかの情報に機敏に反応するシグナルのようです。今後の検討で御報告させて頂きます。

蔵本博行(北里大)：先生の御発表の前半は、子宮体癌の浸潤・転移能にエストロジェンが促進的に、プロゲステロンが抑制的に作用する。後半はエストロジェン・プロゲステロン両受容体の遺伝子変化（つまり受容体として作動してよい状態に変化している）が、（浸潤・転移能の高い筈の）低分化型体癌で高いとの内容であったと承りました。前後で一見矛盾があるように思われますが、どのように理解したらよろしいでしょうか。

藤本次良：前半の転移のステップでのお話では、主に性ステロイドで反応する分化型体癌細胞に関してお話ししました。これらの細胞では主に正

常の性ステロイドレセプターが機能していると考えてよいと思います。さて後半の変異ステロイドレセプターのお話では、すでに転移してしまいそこでの増殖に関して、特徴的発現を示すことを報告しました。まず ER exon 5 splicing variant は estrogen の結合能がありませんが、他の機能部位が活性化されている蛋白です。一方、体癌や乳癌におけるプロゲステロンレセプター (PR) の陽性率はいわゆる ligand assay で30%位です。ところが、mRNA では5'側の primer を使用した PCR ではほとんど全例に検出可能です。したがって、PR も progesterone 結合能のないものが多く、一方他の部位が活性化されていることがあると考えてもよいと思います。したがって、特に転移巣では、いわゆる hormone dependency が喪失してきて、さらに変異性ステロイドレセプターの自動能が活性化されていると考えられ、矛盾していないと考えております。

和氣徳夫(九州大生医研)：① ER E5SV/SR 野生型 ER E5SV の相対量が増大するのであって過剰発現ではないと思いますが。

② Estrogen により E-Cadherin の発現を抑制、この可能性を証明するためには ER の構造・機能が正常という証明が必要なのは。

藤本次良：① おっしゃる通り、ER exon5 splicing variant mRNA/ER wild type mRNA 発現の比です。したがって、相対的な過剰発現で絶対的な過剰発現ではありません。

② PCR による検討で変異があるといえても、正常であるという証明は難しいと思います。本シンポジウムでお話している分化型体癌細胞では estrogen によって c-fos, c-jun, c-Ha-ras が誘導できますが、この誘導を progesterone で抑制できません。しかし、estrogen で E-cadherin 等の発現を変動させ、progesterone によって control の状況に戻ります。したがって、シグナルによって性ステロイドレセプターやそれらの転写因子の細胞内選択があるのかもしれませんが。一部でも正常にシグナル伝達するなら、それに関してはよいと思いますがいかがなものでしょうか。

植田政嗣(大阪医大)：子宮体癌の浸潤・転移抑制剤として MPA、ダイソールは期待できるか。

藤本次良：分化型体癌に期待できると思います。低分化型体癌では一部の転移のステップで著効を示しても、他の多くのステップで抵抗を示してしまい、おそらく臨床応用は困難であると思います。

上野浩久(金沢大)：① MMP-9と TIMP-1 双方が癌において高値の場合(相関する場合)どのような機構で MMP-9が extracellular matrix を degrade するのか。

② active form の MMP-9 との相関はどうであったか。

吉川史隆：① ザイモグラフィーとリバースザイモグラフィーでは卵巣癌、子宮頸癌、子宮体癌ともに MMP-9 と TIMP-1 が増強しています。この両者は相反する蛋白であり矛盾する現象のように思われますが、生体のホメオスタシスを考える時、理解できます。正確にザイモグラフィーやリバースザイモグラフィーで MMP や TIMP を定量することはできませんが、デンシトメーターによる定量では MMP-9 の増強の方が TIMP-1 の増強よりも明らかに強いようです。したがって、両者ともに増強していてもコラーゲン分解活性は癌組織で亢進していると考えられます。一方、癌種間で比べると TIMP-1 は子宮頸癌で他の癌種よりも有意に低値であり、MMP の系だけで判断するならば頸癌は他癌に比べてコラーゲン分解能が強いと考えられます。

② 実際に酵素活性を示す活性型は、MMP-2 で強く認められ癌組織では正常組織よりも有意に活性型の比率が高い。一方、MMP-9 では正常組織においては MMP-9 自体が非常に少なく活性型は殆ど認められません。癌組織では MMP-9 の活性型は潜在型に比べると少ないけれども、活性化率が正常組織に比べて高いことは間違いありません。デンシトメーターによる定量化では MMP-9 の活性型と TIMP-1 とには有意な相関はみられませんでした。しかしながら、活性型は TIMP-2 によっても阻害されるため活性型の解析にはさらに感度のよい正確な定量化が必要であると思います。

工藤隆一：我々の子宮体癌細胞 7 株を用いた研究では MMP の産生は MMP-2 が優位であり、in vitro invasion assay で浸潤能が高いものが

MMP-9 の産生も明瞭になる。先生のデータでは MMP-9 が dominant である。これは癌組織の Stroma cell 由来のものが原因と考えられないか。また、先生のデータでは 1 例 MMP-2 優位のものがあったが、子宮体癌で MMP-9 が優位といいきれないのではないか。

吉川史隆：細胞株の論文を調べるとゼラチナーゼ活性を示す MMP-2, -3, -7, -9 やセリンプロテイナーゼが報告されています。我々は卵巣癌細胞株で調べたのですが明らかな MMP 分泌細胞株は一つだけであり、MMP-2 が優位でした。この細胞株においても継代培養すると MMP の分泌、特に MMP-9 の分泌が減弱してきます。生体の癌組織を考えると、生体癌細胞と細胞株の大きな違いは癌細胞の足場や間質組織からの影響が考えられます。したがって、細胞株と生体癌細胞は MMP に関しては少し性格が異なると思います。我々は実際に癌組織において何が分泌されているのかを知る必要があると考え、癌組織でザイモグラフィーを施行しました。1 例 MMP-9 がみられない症例がありましたが、その後の症例の追加においても他はすべて MMP-9 が優位でありました。また免疫組織染色では MMP-9 が癌組織で染まっており、癌細胞が MMP-9 を分泌すると考えられます。しかしながら、免疫組織染色と in situ hybridization の結果の不一致も報告されており、真実は間質細胞と癌細胞の両者ともに MMP-9 を合成しているということだと思います。子宮体癌に限らずに癌全体の報告を総合すると MMP-9 に関しては癌細胞での合成が優位のようなようです。

斎藤俊章(九州大)：間質細胞培養上清(特に腹膜)が MMP-9 増強を介して浸潤増殖能が増強するという現象は培養上清中の fibronectin によるという成績に関して 2 点の質問。

① フィブロネクチンは chemoattractant として癌細胞の運動(遊走)を促進するが、invasion assay での浸潤増強にはこの現象の影響は関与していないのか。

② フィブロネクチンの接着ドメインである RGD 含有ペプチド(GRGDSP 等)だけでも MMP-9 分泌・増強が起こるか。

吉川史隆：フィブロネクチンによる癌細胞の遊

走能の促進は既に報告されています。今回、フィブロネクチンによる MMP-9 の分泌増強を観察したのですがマトリゲルでの浸潤能の亢進は約 2 倍程度でわずかでしたのでデータは示しませんでした。すなわち、腹膜培養上清では 10 倍以上の浸潤能の増強を認めているので、浸潤能に関してはフィブロネクチンの関与はわずかであり、他の因子が存在していると思います。

② フィブロネクチンによる MMP-9 分泌増強効果は、そのリセプターである $\alpha 5 \beta 1$ の抗 $\alpha 5$ 抗体の添加により抑制可能でした。しかしながら、GRGDS を添加してもザイモグラフィーでは変化が認められず、フィブロネクチンの作用機序に関しては今後、さらに詳細な検討が必要であると思います。

遠藤俊明 (札幌医大) : MMP の Active form といっているが、Active form であるという確認はしているか。分子量だけで Active form といっているのか。

吉川史隆 : 実験を始めた時期に一部の卵巣癌組織の培養上清では APMA により MMP-2, MMP-9 のバンドが活性型のバンドへシフトすることは確認してあります。しかし今回発表した検体においては APMA による活性化実験は施行しておりません。ザイモグラフィーで認められたバンドは MMP 阻害剤である 1,10-オルトフェナンスロリンで抑制され、セリンプロテイナーゼ阻害剤であるジイソプロピルフルオロフォスフェートでは変化がみられませんでした。したがって正常組織や癌組織で認められたバンドはすべて MMP であるといえます。ゼラチン分解活性のある MMP は MMP-2, -3, -7, -9 であり分子量から考えると、それぞれ MMP-2 と MMP-9 とその活性型と考えられます。

藪下廣光 (愛知医大) : ① 癌では MMP (特に MMP-9) とその Inhibitor である、TIMP (特に TIMP-1) の双方が増加し、この増加が癌浸潤に関与するとするならば、MMP と TIMP の両者の不均衡が浸潤機能を発揮する根拠と考えるのですか。

② Zymography, ELISA, 免疫染色で検出される MMP のほとんどは潜在型であるがこれが活

性型に変換される機構についての考察をお願いしたい。

吉川史隆 : ① ザイモグラフィーとリバーサザイモグラフィーでは卵巣癌、子宮頸癌、子宮体癌ともに MMP-9 と TIMP-1 が増強しています。この両者は相反する蛋白であり矛盾する現象のように思われますが、生体のホメオスタシスを考える時理解できます。正確にザイモグラフィーやリバーサザイモグラフィーで MMP や TIMP を定量することはできませんが、デンストメーターによる定量では MMP-9 の増強の方が TIMP-1 の増強よりも明らかに強いようです。したがって、両者ともに増強していてもコラーゲン分解活性は癌組織で亢進していると考えられます。一方、癌種間で比べると TIMP-1 は子宮頸癌で他の癌種よりも有意に低値であり、MMP の系だけで判断するならば頸癌は他癌に比べてコラーゲン分解能が強いと考えられます。MMP と TIMP の不均衡は実験レベルでは確認されていますが、ヒト癌では MMP 以外にも転移に関与する因子がたくさんあり、明らかな答えは出ていないと思います。

② MMP も TIMP も血液中に多量に存在していますが、癌細胞が局所で細胞外マトリックスを分解しつつ浸潤することを考えると、血液中の MMP の関与は少ないと思います。したがって、MMP の活性化も局所で行われると考えられます。我々自身がデータを所有していないので詳細は述べられませんが、間質細胞や癌細胞自身が分泌するセリンプロテイナーゼや癌細胞膜での存在が証明された膜型 MMP が関係しています。これらの MMP 活性化物質もやはり血液中レベルではなく局所での分泌が重要であると考えています。

田中尚武 (癌研究会病院) : ① ATF・HI-8 キメラタンパクによる肺転移抑制実験において、子宮頸癌、体癌、卵巣癌といった癌種が含まれていない理由。

② そのキメラタンパクにより、播種性転移を抑えるという結果はあるか。

小林 浩 : ① ウロキナーゼには種特異性があり、ヒトウロキナーゼはマウスウロキナーゼレセプターには結合しません。ATF・HI-8 キメラ蛋白

はヒト型を作成し、ヌードマウスを用いてヒト培養癌細胞を移植しています。なかなかヌードマウスで肺転移を多く作成するのは困難なのですが、MDA-MB-435, GEO, PC-3, A375等でどうにか肺転移が得られるようになりました。しかし、婦人科の培養癌細胞ではまだ満足するほど十分肺へ転移させることができなかったもので、今回データはお示しできませんでした。

② キメラ蛋白では dissemination 抑制実験はまだ行っていません。UTI では明らかに dissemination を抑制していますのでキメラ蛋白も効果があると考えています。この実験系もヒト癌ではなく、マウスルイス肺癌 (3LL) での実験ですのでヒト癌についてのデータはありません。

中林正雄 (東京女子医大母子センター) : ① 腫瘍では uPA と PAI-1 と両者が増加する場合に予後が悪いと思われます。PAI-1 の癌細胞浸潤に及ぼす役割について御説明下さい。

② 腫瘍では間質細胞に uPA, uPAR が発現した場合に予後が悪いと思われ、間質における uPA の意義は重要であろうと考えますが、いかがでしょうか。

小林 浩 : ① i) 癌の浸潤・転移の第一歩は癌細胞がマトリックスに結合することですが癌細胞があまりにも多量の uPA を発現すると周囲のマトリックスを破壊してしまい、接着が十分でなくなる可能性があります。そこで癌細胞は PAI-1 を同時に分泌し、過剰な fibrinolysis を抑制し浸潤・転移する為に PAI-1 を分泌するものと思います。

ii) また uPA-PAI-1 complex ができて internalize されると白血病細胞 U937 では細胞が S 期に変わることを見出しているので増殖能にも影響を与えている可能性があります。

② 子宮頸癌における臨床データでは、癌が uPA を分泌するタイプより間質が uPA を分泌するタイプが予後不良でした。おそらく癌細胞が、間質にある種の cytokines を分泌して uPA を産生させ、これを利用して (つまり間質細胞やマクロファージを道先案内人として) 浸潤・転移するタイプが予後不良になると考えています。

倉智博久 (大阪大) : ウロキナーゼの部分ペプチ

ドによる抑制実験で、① control 実験はどんなペプチドを使ったか。

② この抑制についての特異性を検討したか、この抑制は本来のウロキナーゼで reverse されたか。

小林 浩 : ① コントロールとして uPA の EGF domain, Kringle domain, 活性基の B-domain から 3 種類選択し合成ペプチドを作成して EGF domain (uPA₁₇₋₃₄) のみが特異的に癌浸潤を抑制することを確認しました。

② HMW-uPA 1nM を添加した時の uPA receptor binding を抑制するためには 100nM 以上のペプチドが必要でした。500nM の合成ペプチドによる癌細胞の浸潤抑制作用は 20nM 以上の HMW-uPA 添加により reverse されました。in vitro 実験のみであり、マウスでの投与実験は行っておりません。

武谷雄二 : UTI はどのような機序で効果をもたらすのか。それ自体 cancer cell-cidal ではないので短期投与で長期的予後が改善することは如何に説明されるのか。

小林 浩 : 外因性に投与された UTI は癌細胞表面に存在するヒアルロン酸に結合したリンクプロテイン (LP) に特異的に結合します。つまり癌周囲の pericellular matrix に取り込まれてから生物活性を発揮するものと考えていますが、signal transduction に関した検討は現在行っているところです。UTI は protease inhibitor としての作用以外にある種の cytokine の signal を途中で modify する作用があります。例えば、TNF- α 刺激に対しては G 蛋白から effector にシグナルが伝達される付近でそのシグナルを block する作用が確認されました。

臨床的に UTI をどのように使うかは不明ですが、私のデータではまず手術時および寛解導入化学療法、さらに維持化学療法中も UTI を使用し、約 2 年間 UTI を使い続けました。

矢追良正 (獨協医大) : ① UTI の臨床応用に際して大学倫理委員会で承認を得られたとお伺いした。ATF・HI-8 キメラ蛋白にはマトイモチからさらに強力に pin point 効果をもち有効であるとお伺いし大変素晴らしいことだと思うが、キメラ蛋

白の臨床応用に対しても倫理委員会の承認を得られたのか。

② キメラ蛋白を使用する場合、癌抑制効果以外に副作用にはどのようなことが予想されるか。「動物実験で効果があったから人間にも効果が期待できるから臨床応用する」と短絡的に臨床応用していくことは歯止めを失う不安が感じられ、ちょっと気になるので質問した。臨床応用に際しては慎重な対応を望みたい。

小林 浩：① UTI はすでにミラクリッドとして発売されている薬剤なのでヒトに投与することは可能だと思います。一方、キメラ蛋白はマウス実験の段階でまだヒトには使用しておりません。先生のおっしゃる通り、動物で効果があってもヒトで無効な場合もあります。動物実験で副作用等チェックしていくつもりです。やはり臨床応用に際しては、各方面の御意見を賜り慎重に対応していきたいと考えています。

② 考えられる副作用としてはキメラ蛋白は uPA receptor に特異的に結合するのでマクロファージに結合する筈です。その後どのような効果(副作用)をもたすのか検討するつもりです。

加藤 紘：キメラ蛋白を投与して転移が抑制された腫瘍を維持していくと再び転移能が出てきて、しかもキメラ蛋白に反応しないようになりませんか。

小林 浩：現在までにマウスを用いた転移抑制実験は約3年間繰り返し行っておりますが、すべて UTI、キメラ蛋白により抑制されており、反応しなくなったことはありません。今後、先生の御指摘のように、キメラ蛋白に頻回接触させて癌細胞での転移能につき検討してみたいと考えています。この問題は嘉村先生のデータとも関連し非常に興味があります。

薬師寺座長：冒頭に野澤教授より、現在明らかにされつつある癌の浸潤と転移の機構と、それらに関わる因子について説明がございました。続いて、本シンポジウムの意図する所と、各演者の研究分野を勘案して、浸潤・転移機構のうち、どのステップの話をして頂くかということを明示して頂きました。したがって、このシンポジウムの構成は予め御理解頂けたと思っております。

※まず、九州大学の嘉村先生には転移能の獲得という最初のステップの知見を報告して頂きました。演者は、教室における卵巢癌症例の予後解析から、化学療法後の再発症例に認められた転移亢進能に着目し、浸潤・転移という癌の自然史における遺伝子変異の再現を試みた成績を示されました。この結果、現在最も奏効率が高いとされている抗癌剤シスプラチンは、卵巢癌に遺伝子変異を起こし、浸潤能を亢進させる一面をもっていることを示されました。またこの結果は、従来より再発癌の治療の困難な理由として挙げられている薬剤耐性の問題に、転移能、浸潤能の亢進という問題も加えるべきで、これらの特徴を考慮した治療法の工夫が必要であるという、临床上の問題点を併せて示して頂きました。

※次の岐阜大学の藤本先生は、浸潤・転移に関わる各ステップに対する性ステロイドの関与と、癌細胞が保有する内分泌関連遺伝子発現の関与を検討した成績を報告されました。

その結果、体癌においては、estrogen は浸潤・転移の各ステップに促進的に作用し、progesterin は抗腫瘍効果と関連なく、それらを打ち消す働きがあること、性ステロイドレセプター遺伝子発現も転移能と深く関係していることを示されました。

また分化型の体癌細胞に対して、progesterin が、また低分化型に対しては、血管新生阻害剤の TNP-470 が basic FGF の分泌を抑制するので、これらの併用療法は血管新生という転移の最終ステップをブロックできるのではないかという臨床上の応用を指摘されたと思います。

※吉川先生は、細胞外基質を分解する多くの酵素のうち、MMP を中心に、各種の婦人科癌の癌組織を用いて検討した成績は示されました。すなわち、癌組織では正常組織に比べて MMP、特に MMP-9 の増強が著明であったこと、また生理的阻害蛋白である TIMP-1 の増強が認められたことから、MMP-9 と TIMP-1 が癌組織と強く関連が深かったことを示されました。

また、癌周囲組織が MMP や TIMP-1 の分泌を増強させる結果から、浸潤というステップには、癌細胞と間質の相互作用が関与し、フィブロネク

チンが増強因子として考えられると考察されました。さらに、以上の成績を踏まえて、MMP の分泌を抑制する方法を検討されていますが、とくに all retionic acid が卵巣癌株の MMP 分泌と浸潤能を抑制することから、臨床応用への可能性を示唆されました。

※小林先生は細胞外マトリックス分解酵素のうち、セリンプロテイナーゼの一種であるウロキナーゼとプラスミンに着目した研究であります。演者は、培養細胞とヒトの臨床検体を用いてウロキナーゼとプラスミノゲンアクチベーターインヒビター1 (PAI-1) の関係を調べ、浸潤・転移する癌はウロキナーゼのみならず、PAI-1も高値を示し、しかも細胞膜上に発現しているウロキナーゼと PAI-1が重要であることを明らかにされました。次いで癌転移抑制の為の試みとして、ウロキナーゼレセプターをブロックする方法とヒト尿中に転移抑制物質として生理的に存在する urinary trypsin inhibitor (UTI) およびその作用増強の為の工夫を行っています。その中でも UTI を使うほうが、毒性がなく臨床応用に合理的であるという見解からこの UTI 分子を詳細に調べて、drug delivery system を考え、キメラ蛋白質を作成し、ユニークな臨床応用への可能性を示されました。

※以上、各演者の講演を要約させて頂きました。この転移の研究は、最近転移の病態モデルの確立を契機に著しい進歩をみせ初めていることは周知の如くであります。しかし、会場の先生方より御質問や御意見の中にありましたように、残された問題も少なくありません。このシンポジウムは婦人科癌について、in vitro から in vivo への再現性を通して、治療への応用を志向し組み立てを考えさせて頂きました。このシンポジウムを契機に婦人科癌の浸潤と転移のメカニズムの研究分野がさらに発展することを期待し、まとめさせて頂きます。

野澤座長：ただ今の各演者の講演からお分り頂けるように、浸潤・転移には数多くのステップがありますので、転移巣の癌細胞はこれらの各関

門をすべて通り抜けてきたことになり、複雑な性格を備えた一筋縄ではいかない細胞群であります。

また、転移巣を形成するまでには、宿主の細胞との係わり合いがあった筈ですので、研究対象も「個々の細胞」ばかりでなく、「細胞社会」にまで拡げる必要があった訳です。したがって、癌の浸潤・転移の本質を探ろうとすれば、分子生物学、細胞生物学、臨床を有機的に総合した幅広い研究が必要です。

それだけに学問が進んだとはいえ、浸潤・転移の全容はいまだ神秘的な生命現象の中にあるといわざるを得ません。

しかし、その謎を解くヒントは、一例一例の臨床例の積み重ねでありましょう。

したがって、我々臨床医学に携わる者にとっては、臨床での現象をその視野に入れながら、生物学の基本的テーマの一つである「浸潤・転移現象」の解明、ひいては治療法の開発に取り組んでいかねばならぬと思います。

しかし、現在のところ、癌転移阻害剤はいまだ市販されておられません。その最も大きな理由は、スクリーニング法と臨床的評価法が確立されておらず、臨床治験での評価が困難であるからです。米国においては、既に幾つかの物質について臨床治験が開始されているとの報告もあります。癌転移の研究の未来、特に転移阻害剤の開発が一層加速されることを望み、若い研究者に大きな期待を寄せる次第であります。

最後に研究成果を臨床現場にどのようにフィードバックするかという基本的理念を大事にしつつ、素晴らしい研究成果を発表頂いた本日の各シンポジスト、熱気溢れる御討論を頂いた会場の先生方、また、このタイムリーな企画を選んで頂いた本学会学術企画委員会の諸先生、並びに本学会の水口会長に深甚の謝意を表させて頂き、本シンポジウムを終わらせて頂きます。

皆様、本日は誠に有難うございました。

学術企画委員会報告

第48回学術講演会シンポジウムについて、学術企画委員長（中野仁雄）、課題選考小委員長（薬師寺道明）、演者選考小委員長（矢嶋 聰）、シンポジウム座長（野澤志朗、薬師寺道明）により事後評価が行われた。事後評価の内容を下記のチェックポイントに沿って報告する。

1) 課題の選考は適切であったか

2 年前に選定された課題であったが、癌の浸潤と転移はシンポジウムの2週間前の医学雑誌に掲載された話題であったり、日本病理学会でも最近特集されるなど、さまざまな分野で現在取り上げられており、タイムリーであったといえよう。遅すぎたこともなく、早すぎることなく、現在進行形の当を得たテーマであったと思われる。

癌学会などの *in vitro* からの切り込みに対して、婦人科癌についての浸潤・転移に関する討論は今まで散発的にはあったが、まとめて取り上げたシンポジウムは初めてであると思われる。

今日から振り返ってみても、2年前に企画した課題の選択は妥当と考えられた。

2) 構成において各演題は適切であったか

今回のテーマはあまりにも広範囲であり、そのすべてを4人の演題で網羅するのは不可能だが、座長の解説講演によって全体の位置付けを示し、その上で成り立っていったシンポジウムであった。

今回に限ったことではないが、演題の構成では一部の重複と一部の空隙を生じていた。これらの演題をすみ分けて統合していくことに座長の苦労がうかがわれた。

3) 発表について形式・内容・時間は適切であったか

昨年と同様に、座長から最初に共通のスライドで解説講演があり、全体の説明が行われることによって発表と討論の方向性を示したことは有意義であった。また、昨年同様、各演者が共通のスラ

イドで発表したことも聴衆の理解を深めるのに役立っており、さらに各演者の発表時間を従来より5分延長して30分としたこともよかった。

各演者のデータ解釈において、それぞれ基準が異なっている印象を受けたが、これは基礎の領域でも認められている方法論であり、全体としては問題はないと思われた。

座長としては、5回の会議に加え、FAX 通信による連絡を取り合うなど、あらかじめ各演者と事前の打合せを行い、スライドの形式・内容・表現方法・時間などについて検討を重ねた。日本語を使つての terminology と definition の統一に苦労があった。また、発表の終わりにあたつての謝辞はスライドで簡略化した。

4) 討論及び質疑について形式・内容・時間は適切であったか

基礎と臨床というテーマに従い、前半は基礎に、後半は臨床に分けた軸に沿って各演者に質疑を行ったこと、及び討論に入る前に座長による要約が行われたことによって質問の拡散が防げた。また、座長の冒頭の解説講演を理解し、臨床への応用を期待して質問した audience であったことも事実である。さらに、日本産科婦人科学会の一般会員にとって細胞生物学が共通のものとなってきた背景があり、同次元・共通の視点で討論できたことが今回のシンポジウムにおける特徴であった。

われわれ産婦人科医は、腫瘍医学と生殖発達医学の、まさに接点に位置しており、このことも今回のシンポジウムで再確認されたような感がある。

5) 全体を通じて今後の検討課題はないか

今回のシンポジウムは、細胞生物学のような全領域に共通の視点を取り入れたこと、及び時代とともに進歩する科学にあって、2～3年後に開花する課題であったことが評価される。一方、演者選考には4名という物理的限界もあるが、演者選考過程における座長の関与についても、さらに検討を重ねていく必要がある。