

F-1

尿3-Hydroxyprolineによるがん健診への応用

松山重雄¹、丸田明枝¹、下境佳織²、新潟真希²、渡辺 哲²、吉川 究³、今村保忠³、林 利彦³、岡崎 勲²

¹ 防衛医大・共利研、² 東海大学・医・地域環境保健系、³ 東大・院・総合文化・生命

がんの増殖・浸潤・転移する際に、matrix metalloproteinases (MMPs) が関与することをがんの病理所見および臨床経過と MMPs との関連から研究してきた。基底膜の主要構成成分である IV 型コラーゲンが、がん病変において分解され、IV 型コラーゲンに3-ハイドロキシプロリンが特異的に存在することから、3-ハイドロキシプロリンががん患者で多量に排泄される可能性がある。各種がん患者の尿中3-ハイドロキシプロリンを測定し、健常者の排泄量との間に大きな差がみられ、all purpose のがん健診に用いることができるのではないかと仮説を立てた。

I型コラーゲンは1000アミノ酸残基当たり4ハイドロキシプロリンが約100、3-ハイドロキシプロリンは1である。IV型コラーゲンはそれぞれ130と11である。IV型コラーゲンの方が3-ハイドロキシプロリンは10倍多いが、尿中3-ハイドロキシプロリンの排泄量を測定するとなると、3-と4-との isomer を別々に測定することが求められる。しかも極めて微量である。私どもはアミノ酸自動分析機を用いて測定した。現在さらに測定方法のキット化を試みている。

各種がん患者について組織診断された96例について、患者さんがたの同意を得て測定された。表2にみられるように、早期癌に近い stage 1 は異常高値出現率26%と低いが、stage II 44%、stage III 60% であった。救命される段階で2人に1人の割合で陽性であるが、同一人で複数回の検査でその人なりの正常値を決めることができれば、もっと高い陽性率が期待できる。

対照の健常人は、某人間ドック機関受診者997人の測定値の成績もいれて、年齢ごとにプロットした。健康人の尿中3-ハイドロキシプロリン量は高齢者で低下する。すなわち癌による高値との差が高齢者の方がより大きい差としてみられる。ROC (receiver operating characteristics) 分析で検討し、この検査方法がスクリーニング検査として用いたときに有用であることを示した。

Urinary 3-hydroxyproline: It's application to all-purpose cancer screening

Shigeo Matsuyama¹, Akie Maruta¹, Kaori Shimosakai², Maki Niioka², Tetsu Watanabe², Kiwamu Yoshikawa³, Yasutada Imamura³, Toshihiko Hayashi³, Isao Okazaki²

¹National Defense Medical College, ²Tokai University, ³The University of Tokyo

F-2

ポリメトキシフラボノイド、ノビレチンによるガン細胞の浸潤活性阻害と MMPs 産生抑制の分子機構

○伊東 晃, 小池玲雄奈, 宮田佳樹, 三巻祥浩¹, 指田 豊¹, 佐藤 隆 (東京薬大・薬・生化学, 同・¹薬用植物)

【目的】ガン細胞の浸潤・転移過程ではマトリックスメタロプロテアーゼ(MMPs)による基底膜の破壊が観察される。演者らは、沖縄産柑橘 *Citrus depressa* 由来のポリメトキシフラボノイド、ノビレチンがウサギ関節滑膜細胞においてインターロイキン1により誘導した proMMPs 産生を抑制することを報告した(J. Rheumatol 27: 20-25, 2000)。今回、ガン細胞の浸潤活性および MMPs 産生に対するノビレチンの作用を検討するために、ヒト線維肉腫細胞 HT-1080 を用いて proMMPs および内因性 MMPs インヒビター TIMPs 産生に対するノビレチンの影響をタンパク質および遺伝子レベルにおいて検討した。また、ガン細胞の浸潤能に対するノビレチンの作用についても検討を加えた。【方法】Confluent まで培養した HT-1080 細胞をホルボールエステル(TPA)およびノビレチンにて処理し、培養液中の proMMPs および TIMPs 産生をゼラチンザイモグラフィーおよびウエスタンブロット法により解析した。また、proMMPs および TIMPs mRNA 発現はノザンブロット法により解析した。ガン細胞の浸潤能はマトリゲルを用いたインベーションアッセイにより検討した。さらに、転写調節因子(AP-1 および NF- B)の結合活性をゲルシフトアッセイにより解析した。

【結果】ノビレチンは、濃度依存的に HT-1080 細胞の浸潤活性を阻害した。また、TPA により誘導した proMMP-9/プロゼラチナーゼ B および proMMP-1 /プロコラゲナーゼ1産生を遺伝子レベルで抑制した。しかしながら、ノビレチンは TIMP-1 産生をその mRNA 発現量の増加とともに促進した。さらに、ノビレチンは TPA により誘導した AP-1 の結合活性を抑制したが、NF- B の結合活性に対しては影響を及ぼさなかった。【考察】ノビレチンは、遺伝子レベルでの MMPs 産生の抑制および TIMP-1 産生の促進に起因した抗浸潤活性を発現することが明らかとなった。また、ノビレチンによる AP-1 結合活性の阻害が MMPs 産生抑制の分子機構のひとつであると示唆される。

Polymethoxyflavonoid, nobiletin has an anti-invasive effect with suppression of MMPs production and augmentation of TIMP-1 production in human fibrosarcoma HT-1080 cells: A possible role of AP-1 in the suppressive action of nobiletin

○Akira Ito, Leona Koike, Yoshiki Miyata, Yoshihiro Mimaki¹, Yutaka Sashida¹, and Takashi Sato (Department of Biochemistry and ¹Medicinal Plant Science, Tokyo University of Pharmacy and Life Science)