

G-9 14-16 員環マクロライド抗生剤による腫瘍血管新生阻害、腫瘍増殖・転移抑制作用の検討

九州大学・胸部疾患研究施設、

○八並 淳、鶴田伸子、高野浩一、井上孝治、綿屋 洋、若松謙太郎、高山浩一、中西洋一、原 信之、

【目的】14 員環マクロライド剤クラリスロマイシン(CAM)、ロキシスロマイシン(RXM)、15 員環マクロライド剤アジスロマイシン(AZM)、16 員環マクロライド剤ジョサマイシン(JM)の腫瘍血管新生阻害作用、腫瘍増殖・転移抑制作用を比較検討する。

【方法】腫瘍細胞としてマウス B16 黒色腫 B16-BL6 を、又 *In vivo* の血管新生モデルは C57BL マウスで背部筋膜炎を用いた。腫瘍増殖は背部皮下接種後の腫瘍径を経時的に計測した。転移モデルとして足底部に接種後 10 日目に腫瘍を切除し、3 週間後に肺転移巣を観察した。

【結果】B16-BL6 がマウス背部皮下に誘導する新生血管領域は CAM, RXM の腹腔内投与により抑制されたが AZM, JM では抑制されなかった。腫瘍増殖・転移も CAM, RXM では容量依存性 (10-50mg/kg/day) に抑制されたが、AZM, JM では抑制されなかった。

【考察】14-16 員環マクロライド抗生剤の腫瘍新生血管阻害作用と腫瘍増殖・転移抑制作用は相関した。マクロライド抗生剤の抗腫瘍効果は 14 員環に特異的であり、アグリコン部が活性に重要と考えられる。

G-11 原発性肺腺癌における CD9, $\alpha 3 \beta 1$ Integrin, VEGF, CD31 発現の意義

広島大学医学部第二病理

○田川公平、有広光司、武島幸男、北口聡一、井内康輝

【目的】CD9, $\alpha 3 \beta 1$ Integrin, VEGF, CD31 は、それぞれ腫瘍細胞の運動性、血管透過性、血管内遊走との関連が想定されているが、肺腺癌における発現の意義については未だ不明の点が多い。

【対象と方法】対象は手術的に摘出された肺腺癌 16 例であり、これらの凍結切片を作成し、ABC法による免疫組織化学的染色を行った。用いた抗体は抗ヒト CD9 マウスモノクローナル抗体 (DAKO社製)、抗ヒト $\alpha 3 \beta 1$ マウスモノクローナル抗体 (Novocastra社製)、抗ヒト VEGF マウスモノクローナル抗体 (IBL社製) および抗ヒト CD31 マウスモノクローナル抗体 (DAKO社製) である。

陽性度の評価は、CD9, $\alpha 3 \beta 1$ Integrin, CD31 については細胞膜の所見として、VEGF については胞体の所見として、50% 以上の腫瘍細胞に発現が見られた場合を強陽性、5~50% を弱陽性、5% 未満を陰性とした。

【結果】脈管侵襲陽性例では 10 例中 6 例 (60%) で $\alpha 3 \beta 1$ Integrin と CD9 がともに強陽性であったのに対し、脈管侵襲陰性例ではこの所見は 6 例中 2 例 (33.3%) のみ認められた。VEGF については、脈管侵襲陽性例では 10 例中 3 例 (30%) で陽性であったが、脈管侵襲陰性例では陽性例は認めなかった。CD31 の発現には特徴がなかった。組織分化度との相関をみると、低分化型では 6 例中 5 例 (83.3%) で $\alpha 3 \beta 1$ Integrin と CD9 がともに強陽性であったのに対し、中分化型では 6 例中 2 例 (33.3%)、高分化型では 4 例中 1 例 (25%) にこの所見を認めた。

【考察】CD9, $\alpha 3 \beta 1$ Integrin, VEGF は、脈管侵襲を示す腫瘍細胞に発現する傾向があり、このうち $\alpha 3 \beta 1$ Integrin, CD9 は低分化な腫瘍で発現する傾向があった。以上の所見はこれら因子が肺腺癌の浸潤性増殖に関与する可能性を示唆する。

G-10 ヒト肺癌高転移株の樹立とインテグリン変化の検討

日本医科大学第 4 内科

○篠田欣也、竹中圭、日比野俊、竹田雄一郎、松田久仁子、渋谷昌彦、武市朗子、小野靖、工藤翔二

【目的】各種ヒト肺癌培養細胞株より経静脈モデルのヒト肺癌高転移株を樹立する。樹立した高転移株と親株との接着能、浸潤能、 β インテグリンの発現及び機能、増殖能、等の比較により高転移性に関与する要因について検討した。【材料】Cell line: PC7, PC9, PC14, Lu135, N231, H69 / mice: 6 weeks old, male, BALB/C nude mice / monoclonal 抗体: anti $\alpha 1, \alpha 2, \alpha 3, \alpha 4, \alpha 5, \alpha 6$, anti $\beta 1$ antibodies 【方法】(i) experimental metastasis assay (ii) invasion assay (iii) cell adhesion assay (iv) flow cytometric analysis (v) adhesion inhibition assay (vi) MTT assay, [³H] thymidine incorporation assay (vii) tumorigenicity assay (viii) NK cytotoxicity assay 【結果】ヒト非小細胞肺癌株(PC9)より高率に肺転移及び肺外転移を形成する細胞株(PC9/F9)を樹立した。高転移株は、invasion assay においてマトリジェルへの浸潤能が著明に亢進していた。adhesion assay において、ラミニンへの接着能が亢進し、コラーゲンタイプIV、フィブロネクチンへの接着能が発現されていた。高転移株は、 $\beta 1$ インテグリン発現の検討では、親株は VLA2, VLA3, VLA6 を発現していたが、高転移株はさらに VLA4 と VLA5 を発現していた。Adhesion inhibition assay では、親株が VLA3 によりラミニンに接着していたのに対し、高転移株のラミニンへの接着能の亢進は $\beta 1$ インテグリン以外の接着分子の関与が示唆された。in vitro の増殖能は、親株が高転移株を上回っていたのに対し、in vivo では著明に高転移株の増殖能が亢進していた。

G-12 肺癌切除症例における MMP-2 及び Integrin $\alpha v \beta 3$ の細胞膜発現量と転移能に関する検討

長崎大学医学部第一外科

○久松 貴、田川 泰、原 信介、綾部公誌

【目的】肺癌の転移、浸潤との関係が報告されている多くの因子の内、4 つの細胞膜表面蛋白 (MMP-2, 9, CD44v6, Integrin $\alpha v \beta 3$) に着目し、それらの細胞膜表面での発現量と転移能との関係、及び蛋白間に存在すると思われる発現調節機構について検討する。

【対象及び方法】1996年9月より1997年3月に当科において切除術を施行された肺癌症例の内、短期培養により測定可能な細胞の得られた 21 症例で、細胞膜表面における抗原を FACSscan を用いて測定、QIFI kit (DAKO) にて定量化した。培養細胞を用いた実験においても同様の手法を用いた。

【結果】小細胞癌の 1 症例を除き、リンパ節転移陰性群に比べ、陽性群において MMP-2, Integrin $\alpha v \beta 3$ は共に高値を示した。また、全症例において両蛋白の発現量には明らかな正の相関を認め、2 つの蛋白は細胞膜上で相互に影響し、何らかの発現調節機構を有し、少なくともリンパ節転移に関係している可能性が示唆された。培養細胞を用いた実験からも両蛋白の細胞膜表面発現に何らかの相関関係の存在が示唆され、Integrin $\alpha v \beta 3$ から MMP-2 へ向かう共通の調節機構の存在が疑われた。更に両蛋白の共発現が細胞の転移能に及ぼす影響についても検討していく。