

病態生化学部門

教授	済木育夫	(医学博士)
助教授	中島松一	(医学博士)
助手	村田純	(理学博士)
技官	林和子	

病態生化学部門は病態の生化学研究を行うとともに、和漢薬を含む種々の薬物の病態に及ぼす効果を生化学的、免疫学的、あるいは遺伝学的に研究することを目的としている。和漢薬を中心に、構造の明かにされた成分あるいは化合物を用いて、種々の病態（癌、アレルギーなどの疾患）に有効な薬物の探索とその作用機序を分子レベルで解明する。また、「証」といわれる病態変化を遺伝子工学的、免疫学的手法等を駆使してその遺伝的背景を解析し、薬物の効果発現との関連性からその科学的基盤を解明する。

I. 癌および癌転移の抑止に関する基礎的研究

- 1) 癌および癌転移の抑制物質の探索（伝統薬物を中心に）
- 2) 癌の悪性化・進展モデルの確立とその分子機序の解析
- 3) 癌ワクチンを指向した免疫遺伝療法の開発と免疫力増強物質の検索
- 4) 同所移植性転移モデルにおける転移の臓器特異（選択）性とその機序の解析
- 5) 細胞接着の制御に基づく浸潤・転移の抑制
- 6) 基底膜分解酵素の転写・産生・分解レベルでの阻害物質の探索

II. 免疫抑制に関する基礎的研究

- 1) アレルギー性／炎症性疾患モデルの確立と有効物質（抑制／増強）の探索
- 2) マクロファージによる臓器移植片および癌細胞の排除機構に関する研究
- 3) 免疫応答調節機構解明と和漢薬への応用

III. 細胞の機能制御とシグナル伝達機構の解析

- 1) 自己分泌型運動因子の特性とそのレセプターの解析
- 2) 細胞運動と細胞内調節分子の関連性の解析
- 3) 神経ペプチドによる細胞浸潤の制御と細胞内機能分子の関与

◇ 原 著

- 1) Young H., Murata J., Clair T., Polymeropoulos M. H., Torres R., Manrow R. E., Liotta L. A. and Stracke M. L.: Cloning, chromosomal localization, and tissue expression of autotaxin from human teratocarcinoma cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 218 : 714-719, 1996.

Autotaxin, a potent human tumor cell motility-stimulating exophosphodiesterase, was isolated and cloned from the human teratocarcinoma cell line NTera2D1. The deduced amino acid sequence for the teratocarcinoma autotaxin has 94 % identity to the melanoma-derived protein, 90 % identity to rat brain phosphodiesterase I/nucleotide pyrophosphatase (PD-1E ϕ), and 44 % identity to the plasma

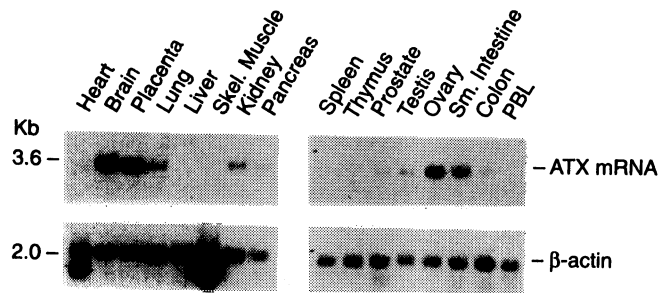


Fig. 1 Differential tissue expression of ATX. Northern blots were prepared using $2 \mu\text{g}$ /well of poly-(A) mRNA from multiple human tissues. A [^{32}P] radiolabeled 776 bp cDNA fragment from teratocarcinoma ATX was used as probe. ATX expression is highest in brain, placenta, ovary and small intestines.

cell membrane marker PC-1. Utilizing polymerase chain reaction screening of the CEPH YAC library, we localized the autotaxin gene to human chromosome 8q23-24. Northern blot analysis of relative mRNA from multiple human tissues revealed that autotaxin mRNA steady state expression is most abundant in brain, placenta, ovary, and small intestine (Figure 1).

2) Saiki I., Koike C., Obata A., Fujii H., Murata J., Kiso M., Hasegawa A., Komazawa H., Tsukada H., Azuma I., Okada S. and Oku N.: Functional role of sialyl Lewis X and fibronectin-derived RGDS peptide analogue on tumor cell arrest in lungs followed by extravasation. *Int. J. Cancer*, 65: 833-839, 1996.

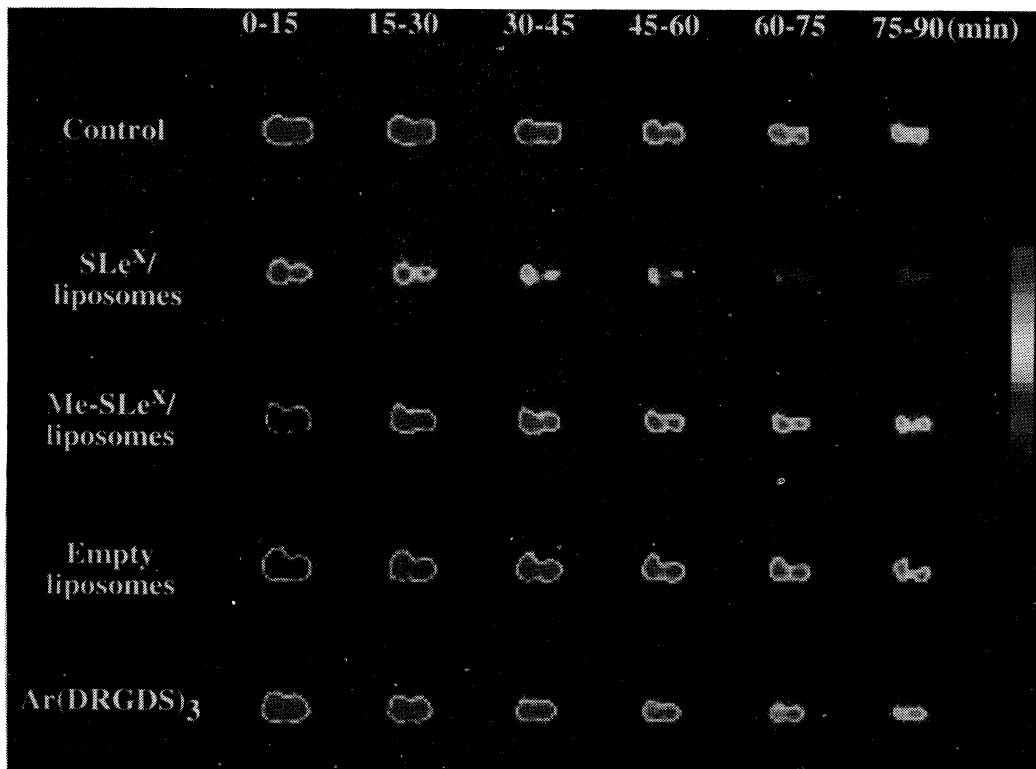


Fig. 2 PET image of [^{18}F]FDG-labelled cell accumulation in lungs. C57BL/6 mice were injected with [^{18}F]FDG-labelled melanoma cells (5×10^5) with or without SLe^x/liposomes, Me-SLe^x/liposomes, empty liposomes (3 nmol as EPC), or Ar(DRGDS)₃. The emission scan of PET was started immediately after tumor injection and performed over 90 min.

ABSTRACT : The present study demonstrated that synthetic sialyl Lewis X (SLe^x) as a ligand for selectins and fibronectin-derived RGDS peptide analogue [Ar (DRGDS)₃] inhibited lung metastasis produced by i.v.co-injection of B16-BL6 melanoma cells. To investigate their inhibitory mechanisms in a living animal, we performed positron emission tomography (PET) analysis after i.v. injection of [2-¹⁸F]2-fluoro-2-fluoro-2-deoxy-D-glucose-labeled tumor cells with or without liposomal SLe^x or Ar (DRGDS)₃. The real-time PET measurement for first 120 min started immediately after injection showed that tumor cell arrest i.e. accumulation in the target organ (lung) was remarkably inhibited by liposomal SLe^x, but not inhibited by Ar (DRGDS)₃ or liposomal Me-SLe^x which is not recognized by selectins (Figure 2). In contrast, Ar (DRGDS)₃ inhibited the invasion of B16-BL6 cells into reconstituted basement membrane (Matrigel) following the tumor arrest, whereas SLe^x-or Me-SLe^x-entrapped liposomes did not affect tumor invasion. In the metastatic processes containing tumor cell lodgement and arrest in the target organ followed by extravasation (invasion), SLe^x resulted in the inhibition of initial arrest of tumor cells, presumably tumor-endothelium interaction, while Ar (DRGDS)₃ achieved the inhibition of tumor invasion into basement membrane at later steps of the cascade, consequently leading to the inhibition of metastasis. Thus, tumor cell arrest in lungs in the metastatic processes must be precisely and properly controlled by different adhesion molecules at different stages, which are similar to those observed in leukocyte-endothelium interaction.

3) **Sato K., Yoo Y. C., Matsuzawa K., Watanabe R., Saiki I., Tono-oka S. and Azuma I. : Tolerance to the anti-metastatic effect of lipopolysaccharide against liver metastasis of tumor in mice. *Int. J. Cancer*, 66 : 98-103, 1996.**

We describe the involvement of endotoxin tolerance in the refractoriness of its anti-metastatic effect against murine syngeneic tumors. Three i.v. administrations of LPS at intervals of 4 days after tumor inoculation inhibited liver metastasis of L5178YML25 cells, whereas 3 consecutive i.v. administrations of LPS showed only a slight sup-

pressive effect. Multiple i.v. administrations of LPS, synthetic lipid A, its synthetic derivative DT-5461, Staphylococcus aureus (S. aureus) BioParticles or Staphylococcal enterotoxin B (SEB) on days 1, 5 and 9 after tumor inoculation inhibited liver metastasis of T-lymphoma cells in normal mice. The anti-metastatic effects of LPS, synthetic lipid A or DT-5461 but not S. aureus BioParticles or SEB were diminished in mice injected with LPS at daily intervals for 7 days before tumor inoculation. Mice receiving 3 consecutive i.v. administrations of LPS at daily intervals exhibited suppression of LPS-

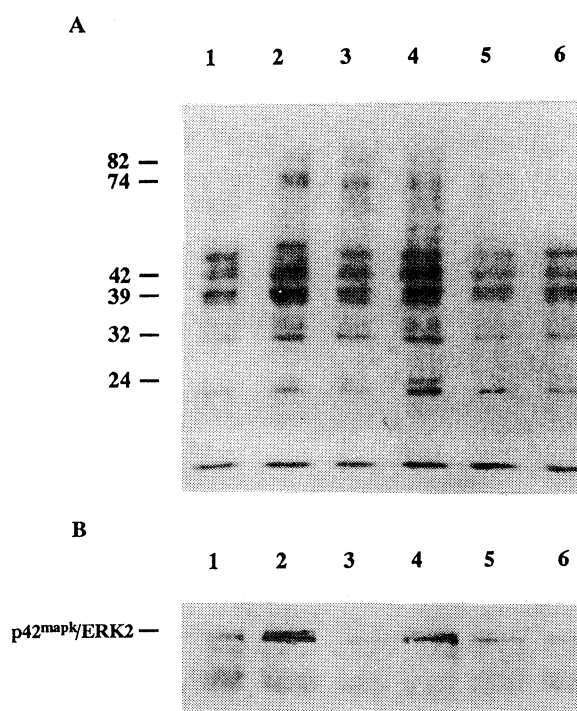


Fig. 3 -Suppression of LPS-induced protein tyrosine phosphorylation in macrophages from LPS-tolerant mice. Three CDF1 mice per group were given i. v. injections of 10 μ g/mouse of LPS on the indicated days, and the macrophages were obtained 3 days after the last injection. The cells (5×10^6) were either unstimulated (lane 1, 3, 5) or incubated (lane 2, 4, 6) with LPS (0.1 μ g/ml) for 20 min at 37°C. The cell lysates (a) or the immunoprecipitations with anti-MAP kinase anti-sera (b) were fractionated by SDS-PAGE and blotted onto PVDF membranes, as described in "Material and Methods". Tyrosine-phosphorylated proteins were detected by ECL using HRP-conjugated anti-phosphotyrosine MAb. Lanes 1 and 2, normal mice ; lanes 3 and 4, mice given 3 injections of LPS at intervals of 4 days ; lanes 5 and 6, mice given 3 consecutive injections of LPS.

induced production of endogenous tumor necrosis factor- α (TNF- α), tumoricidal activity of macrophages, and natural-killer (NK) activity of splenocytes when compared with those of normal mice. Macrophages from mice receiving consecutive daily i.v. administrations of LPS for 3 days showed reduction of LPS-induced tyrosine phosphorylation of several intracellular proteins, including p42^{mapk}/ERK2 when compared with that of the cells obtained from normal mice (Figure 3). These data suggest that the LPS-induced anergic state of monocytes/macrophages plays a crucial role in endotoxin tolerance with respect to the metastasis of T lymphoma in the liver.

4) Fujii H., Inobe M., Kimura F., Murata J., Murakami M., Onishi Y., Azuma I., Uede T. and Saiki I. : Vaccination of tumor cells transfected with B7-1 (CD80) gene induces the anti-metastatic effect and tumor immunity in mice. *Int. J. Cancer*, 66 : 219-227, 1996.

ABSTRACT : The present study demonstrated that the transfection of B7-1 or its variant MB7-2 genes into MHC class I⁺ tumor cells (B16-BL6 or K1735-M2 melanoma) resulted in the remarkable reduction of lung metastasis caused by the i.v. injection into immunocompetent syngeneic mice. However, i.v. injection of the transfectants into T cell deficient nude mice did not affect reduction of lung tumor colonies as compared with parental wild-type tumors, suggesting that such inhibitory effect was closely associated with T cell-mediated responses. The reduced metastasis of B7⁺ tumor cells consequently led to the significant prolongation of mice survival. Expression of B7 on tumor cells did not influence the tumorigenicity in vivo and tumor cell invasion into basement membrane Matrigel in vitro. We also found that immunization of X-irradiated B7 transfectants was effective as a tumor vaccine for preventing lung metastasis caused by i.v. injection of B7⁻ parental B16-BL6 cells, but not effective against other syngeneic 3LL tumors. Thus, B7-mediated antimetastatic effect was tumor specific. Vaccinations of irradiated B7⁺ tumor cells before and after surgical excision of the inoculated primary B7⁻ tumors on day 21 achieved effectively the prevention of spontaneous lung

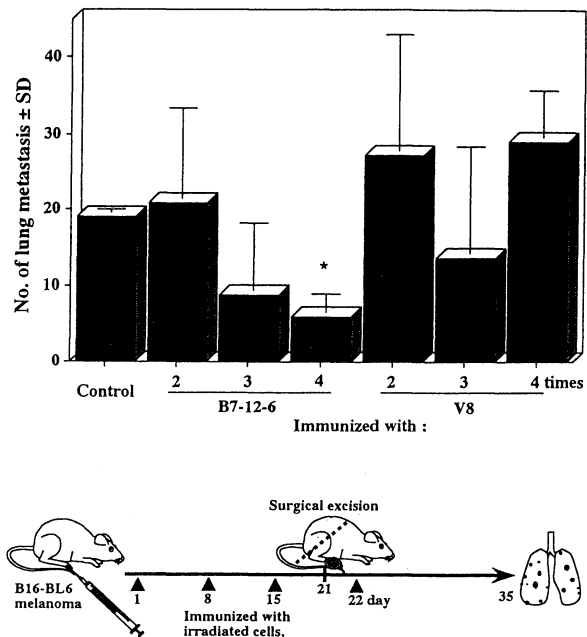


Fig. 4 - Effect of multiple immunization with irradiated B7-transfected cells on spontaneous lung metastasis produced by intra-footpad injection of B16-BL6 melanoma cells. Seven C57BL/6 mice per group were inoculated s.c. with 5×10^5 viable B16-BL6 cells into right hind footpad. Subcutaneous immunization with 10^6 irradiated B7-12-6 or V8 cells was begun on day 1 after tumor inoculation, and treatment was performed 2, 3 or 4 times at a 7-day interval. Surgical excision of primary tumors was carried out on day 21, and were killed on day 35 after tumor inoculation. * $p < 0.001$ compared with non-immunized control by Student's 2-tailed t test.

metastasis (Figure 4). This is a first reports that vaccination of irradiated B7⁺ tumor cells led to a therapeutic effect on established tumor metastasis model.

5) Oku N., Tokudome Y., Koike C., Nishikawa N., Mori H., Saiki I. and Okada S. : Liposomal Arg - Gly - Asp analogs effectively inhibit metastatic B16 melanoma colonization in murine lungs. *Life Science*, 58 (24) : 2263-2270, 1996.

Analogues of a synthetic peptide having the L-arginine-L-glycine-L-aspartic acid (RGD) sequence have been found to decrease metastatic colonization. To enhance the metastasis-suppressing efficacy of these analogs, we sought to stabilize these

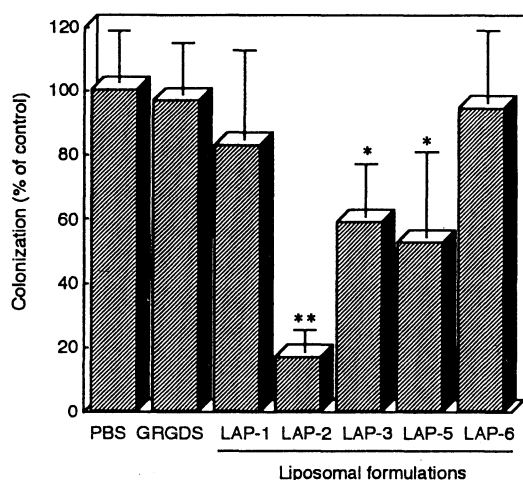


Fig. 5 Effect of liposomal RGD on experimental lung metastasis. Liposomal RGD ($0.6 \mu\text{mol}$ RGD derivative equivalent to ca. 0.2 mg as RGD moiety/mouse) as well as free GRGDS were co-injected with B16-BL6 cells (1×10^5 cells/mouse) into a tail vein of male mice ($n=5$). At day 14, the mice were sacrificed under anesthesia, and the metastatic colonies in lungs were examined. Colony numbers are expressed as percent of control and SD, where the colony number of control was 94.8 ± 14.9 . * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. PBS control. Similar result was obtained in a separate experiment.

analogs and to prolong their circulation time by incorporating them into a liposomal formulation. Various structures of RGD analogs grafted to hydrophobic groups were synthesized and then incorporated into liposomes. Liposomes composed of distearoylphosphatidylcholine, cholesterol, dipalmitoylphosphatidylglycerol and appropriate RGD analogs were injected intravenously along with B16BL6 murine melanoma cells into mice. Liposomal RGD (0.6 m mol of the analog equivalent to ca. 200 mg RGD peptides) inhibited lung colonization up to 76% (Figure 5). This dose is an order of magnitude lower than that for comparable inhibition reported for free RGD. Multi-dose administration of liposomal RGD (0.15 m mol of the analog) also inhibited the spontaneous lung metastasis of cells from a primary tumor site of B16BL6 cells subcutaneously implanted into footpad of mice. Taken together, our data indicate that liposomal RGD may serve as a useful anti-metastatic agent.

6) Ohnishi Y., Fujii H., Kimura F. Mishima T.,

Murata J., Tazawa K., Fujimaki M., Okada F., Hosokawa M. and Saiki I : Inhibitory effect of a traditional Chinese medicine, Juzen-taiho-to on progressive growth of weakly malignant colne cells derived from murine fibrosarcoma. *Jpn. J. Cancer Res.*, 87 : 1039-1044, 1996.

We have investigated the inhibitory effect of oral administration of Juzen-taiho-to, a Kampo (Chinese herbal) medicine, on progressive growth of a mouse fibrosarcoma. Spontaneously regressive QR-32 tumor cells were able to grow progressively in vivo when a foreign body, gelatin sponge, whereas QR-32 cells alone gradually grew for over 15 days after inoculation and thereafter regressed or up to 25 days. Oral administration of Juzen-taiho-to (40 mg/day/mouse) for 7 days after inoculation of QR-32 cells with gelatin sponge resulted in significant inhibition of tumor growth and prolongation of the survival of the tumor-bearing mice (Figure 6). Thus growth-inhibitory effect of Juzen-taiho-to

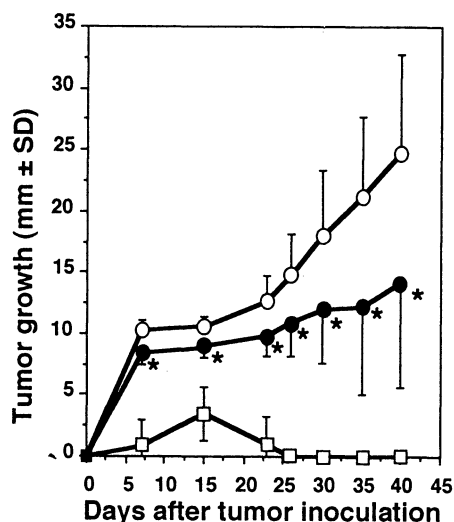


Fig. 6 Effect of *Juzen-taiho-to* on the growth of QR-32 fibrosarcoma after coimplantation with gelatin sponge. Five to ten C57BL/6 mice per group were inoculated s.c. with QR-32 cells (10^5) with or without gelatin sponge ($10 \times 5 \times 3 \text{ mm}$ size). *Juzen-taiho-to* (40 mg/day/mouse) was administered orally for 7 days after tumor inoculation. Tumor growth was measured as a function of time after implantation and calculated as average diameter (mm) of the long and short axes. (□), QR-32 alone; (○), QR-32+gelatin sponge; (●), QR-32+gelatin sponge + *Juzen-taiho-to*. * $p < 0.01$ as compared with the control (QR-32 + gelatin sponge) by Student's two-tailed t test.

observed on day 25 was dose-dependent over the dose range from 4 to 40 mg/day. Treatment with Juzen-taiho-to for 7 days before tumor inoculation with gelatin sponge also significantly suppressed tumor growth examined on day 25, as did the administration of bismuth subnitrate, which is well known to induce metallothionein, an antioxidant. On the other hand, inoculation of progressed tumor cells (QRsP) resulted in growth without gelatin sponge, leading to death in syngeneic mice. Administration of Juzen-taiho-to for 7 days after tumor inoculation of QRsP cells resulted in a decrease of the tumor growth and prolongation of the survival of mice, but the effect was than that on the growth of QR-32 regressor tumor after tumor inoculation with gelatin sponge. These results suggest that the inhibitory effect of Juzen-taiho-to is partly associated with prevention of gelatin sponge-elicited progressive growth, probably mediated by endogenous factors including antioxidant substances, in addition to the augmentation of host-mediated antitumor activity.

7) Nishimura T., Watanabe K., Yahata T., Ushaku L., Ando K., Kimura M., Saiki I., Uede T. and Habu S. : Application of interleukin 12 to antitumor cytokine and gene therapy. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 38 : (suppl) 27-34, 1996.

Abstract : In vivo administration of interleukin 12 (IL-12) at 2000 U/mouse induced IL-12-activated killer (IL-12AK) cells in parallel with an elevation in serum interferon-g (IFN- γ) activity. Although NK1.1+CD3-natural killer cells are the major precursor of IL-12AK cells, asialo GM1+CD8+ T-cells were also demonstrated to be novel precursors. Such anomalous killer cells may play an important role in the early stages of the host defense mechanisms against tumors. It was also shown that IL-12 is effective in inducing tumor-specific cytotoxic T-lymphocytes. Consistent with these data, IL-12 had marked activity against various kinds of established tumors when given systemically. Mice cured of tumors by IL-12 treatment acquired tumor-specific T-cell immunity. Moreover, we initially demonstrated that IL-12 was effective in preventing and inhibiting the growth of primary tumors induced by the chemical carcinogen methylnitrosourea using c-Ha-ras transgenic mice. Finally, we investigated the application of IL-12 to antitumor gene therapy. Transfer of the IL-12 gene into A20 B-lymphoma cells resulted in the continuous production of IL-12 and caused abrogation of in vivo tumorigenicity. Tumor cells transfected with the IL-12 gene are potentially a good tool as a tumor vaccine, as they effectively induced IL-12 AK cells, IFN-g produc-

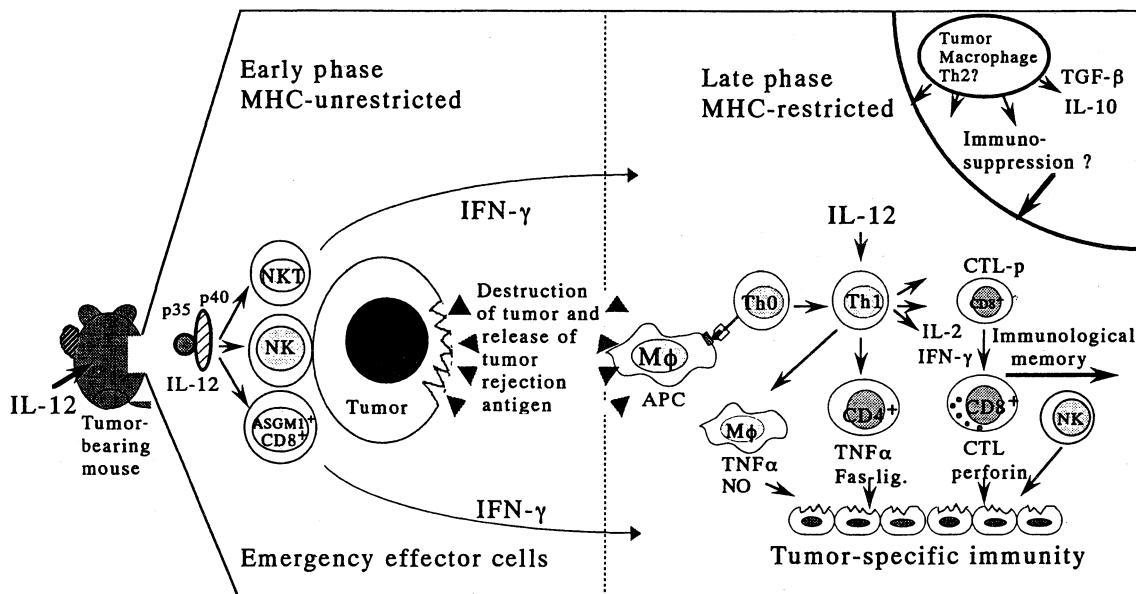


Fig. 7 Possible mechanisms underlying IL-12-induced antitumor activity in vivo

tion, and tumor-specific protective immunity. Although B16-BL-6 melanoma cells, which are a highly metastatic subclone of B16 melanoma cells, showed resistance to IL-12 gene therapy, combination therapy with the B7-1 gene and systemic IL-12 administration almost completely inhibited tumor metastasis. Similar results were obtained using B16-BL-6 melanoma cells transfected with both B7-1 and IL-12 genes. These results suggest that IL-12 is a promising cytokine for antitumor cytokine and gene therapy (Figure 7).

8) Nishikawa N., Komazawa H., Oriyasa A., Yoshikane M., Yamaguchi J., Kojima M., Ono M., Itoh I., Azuma I., Fujii H., Murata J. and Saiki I.: Synthesis and biological properties of partially modified retro and retro-inverso pseudo peptides of Arg-Gly-Asp (RGD). *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 6(22): 2725-2728, 1996.

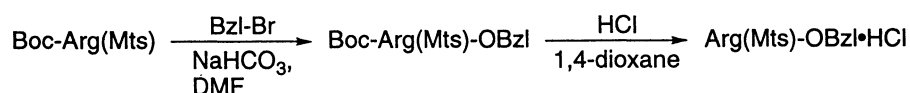
Abstract: Partially modified retro and retro-inverso peptide analogs of Arg-Gly-Asp (RGD)

were synthesized (Scheme 1 & 2) and examined their inhibitory effects on experimental lung metastasis of murine melanoma and adenosine 5-diphosphate (ADP) induced platelet aggregation. The analogs showed efficient therapeutic potency for the tumor metastasis but low inhibitory effect on ADP induced platelet aggregation.

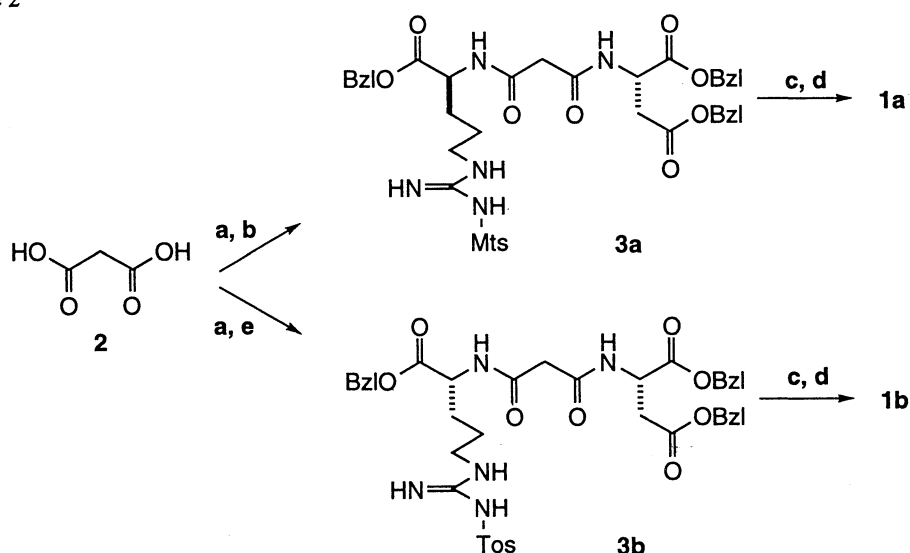
9) Fujii H., Nishikawa N., Komazawa H., Oriyasa A., Ono M., Itoh I., Murata J., Azuma I. and Saiki I.: Inhibition of tumor invasion and metastasis by peptidic mimetics of Arg-Gly-Asp (RGD) derived from the cell recognition site of fibronectin. *Oncology Res.*, 8(9): 333-342, 1996.

The partially modified retro- and retro-inverso peptides of the Arg-Gly-Asp (RGD) sequence of fibronectin, in which the direction of the Arg residue is reversed and/or the chirality of the amino acid residue is inverted, i.e. mainly R_{rev} -COCH₂CO-D and $^pR_{rev}$ -COCH₂CO-D, have been synthesized to examine their antimetastatic effects in murine lung

Scheme 1



Scheme 2



(a) DPPA, Asp(OBzl)₂·TosOH, Et₃N, DMF; (b) DPPA, Arg(Mts)-OBzl·HCl, Et₃N, DMF; (c) TFMSA, thioanisole, *m*-cresol, TFA; (d) Amberlite® IRA-400 (Cl⁻); (e) DPPA, D-Arg(Tos)-OBzl·HCl, Et₃N, DMF

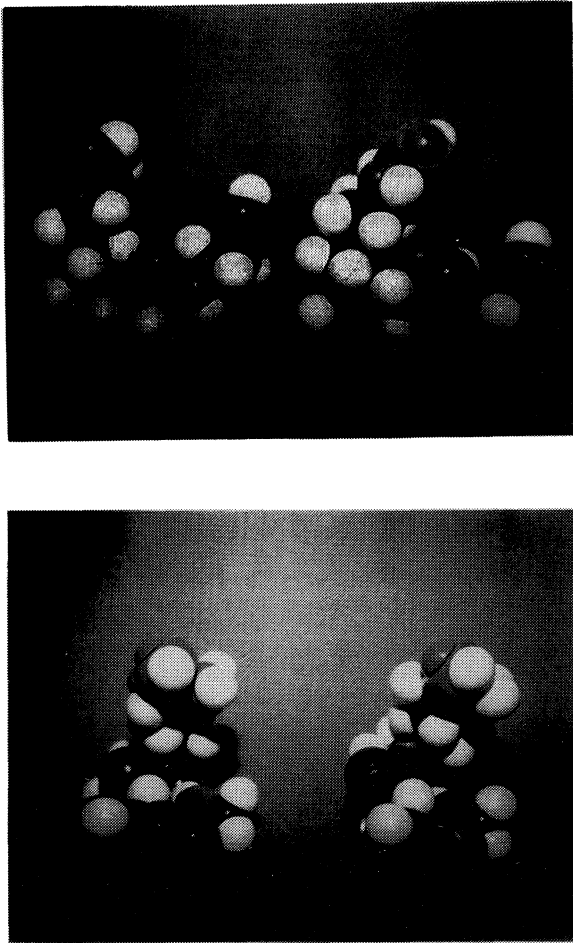


Fig. 8 Structure of RGD (models on left) and R_{rev} - $COCH_2CO$ -D (models on right) peptides. Top : front view ; bottom : side view.

or liver metastasis models, as well as their inhibitory effect on tumor cell invasion in vitro. R_{rev} - $COCH_2CO$ -D inhibited lung metastasis produced by i.v. coinjection with B16-BL6 melanoma more potently than did other pseudo peptides or the original RGDS peptide. R_{rev} - $COCH_2CO$ -D also showed anti-metastatic effects against several different types of tumor cells such as B16-BL6 melanoma, Colon26M3.1 carcinoma and L5178Y-ML25 lymphoma cells, in a dose-dependent manner, and a therapeutic effect on spontaneous lung metastasis by multiple administrations. The invasion of melanoma cells into reconstituted basement membrane Matrigel in vitro was suppressed by R_{rev} - $COCH_2CO$ -D more effectively than by RGDS. These results indicate that the anti-metastatic effect by R_{rev} -

$COCH_2CO$ -D was in part due to the inhibition of tumor invasion. The RGDS peptide decomposed when incubated with fresh plasma in vitro, whereas R_{rev} - $COCH_2CO$ -D was not affected by the treatment. Thus, the reversion of the Arg-Gly linkage in the RGD sequence results in protease resistance leading to the retardation of the clearance of the peptide in vivo, and consequently augment its anti-metastatic and anti-invasive properties. Designed peptide analogues may provide various advantages and be useful for preventing cancer metastasis (Figure 8).

◇ 学会報告等

- 1) 済木育夫：特別講演「細胞接着の制御に基づく癌転移の抑止：接着相互作用の阻害と亢進」, 第9回 関越 UFT 研究会, 1996, 1, 27, 埼玉.
- 2) 済木育夫：シンポジウム「新しい化学療法標的分子阻害剤のスクリーニング法」 基底膜浸潤阻害物質, 第6回日本臨床腫瘍研究会, 1996, 2, 17, 名古屋.

癌の転移は、癌細胞の原発巣からの離脱と周辺組織への浸潤からはじまって、遠隔部位（転移組織）での増殖による転移巣の形成に至るまでの複雑な反応カスケードから成り立っている。特に、癌細胞の基底膜への浸潤は、この転移過程において極めて重要なステップの一つである。それゆえ、浸潤を標的として、抑制あるいは阻害する物質（抗転移・浸潤物質）を探索することは、癌の転移を予防あるいは治療する有効な物質の選別に寄与しうると思われる。基底膜への浸潤過程が、主として、1) 基底膜への接着(adhesion), 2) 酵素による基底膜の分解・破壊 (enzymatic degradation), および 3) 運動・移動 (motility/migration) のステップから成り立っていることを考慮すると、従来の癌細胞に対する直接的な増殖抑制 (cytotoxic) 作用を有する物質に加えて、接着阻害、酵素阻害、運動阻害作用を有する物質も候補の一つとなりうる。in vivo において転移・浸潤を抑制する物質を探索・検定するに先駆け、in vitro における基底膜再構成基質(マトリジェル) への癌細胞の浸潤実験は、その抑制あるいは阻害物質の探索・評価を速やかに検定できうと考えられる。

- 3) 安東嗣修, 長澤哲郎, 済木育夫, 林 和子, 倉石泰：マウスのサブスタンスP誘発引掻き行動に及ぼす 2-chloroadenosine と carrageenan の影響, 第69回日本薬理学会, 1996, 3, 20-21, 長崎.

- 4) 小幡亜矢, 藤猪英樹, 村田 純, 済木育夫, 小池千恵子, 岡田昌二, 奥 直人, 木曾 真, 長谷川明, 駒澤宏幸, 東 市郎: 癌細胞の標的臓器微小管内への着床に及ぼすシアリルルイスX (SLe^x) および RGDS 誘導体の効果とその機序の解析, 日本薬学会第116年会, 1996, 3, 27-29, 金沢.

【目的】フィブロネクチン由来の合成 RGDS ペプチド誘導体およびリポソーム化 SLe^x によるマウスメラノーマ細胞の実験的肺転移の抑制効果を検討し, その転移抑制機序, 特に癌細胞の標的臓器微小管内への着床過程 (arrest) に及ぼす効果の解析を行った。

【方法】転移モデルとして, 肺に高転移性の B16-BL6 メラノーマ細胞を用いた。ポジトロン CT (PET) を用いたリアルタイム画像解析は, [18F]FDG で標識した癌細胞を薬剤とともに尾静脈内に投与し, その後経時的に臓器 (肺) の画像化を行った。

【結果】合成 RGDS 誘導体: Ar (DRGDS), あるいはリポソーム化 SLe^x を癌細胞とともに投与することにより, 有意に肺転移を抑制した。PET 画像解析において, 放射標識した癌細胞を移入後 90 分間に, リポソーム化 SLe^x は癌細胞の肺への集積を強く抑制したが, セレクチンにより認識されないリポソーム化 Me-SLe^x および Ar (DRGDS) では抑制効果を示さなかった。一方, 着床後に引き起こされる癌細胞の基底膜浸潤は, Ar (DRGDS) により顕著に阻害されたが, リポソーム化 SLe^x および Me-SLe^x では影響が認められなかった。

【考察】脈管内に侵入した癌細胞は, 炎症部位への白血球の遊走時の白血球-血管内皮細胞間に関わる接着分子群と類似あるいは同様の機構を利用している可能性が考えられ, SLe^x は転移過程の比較的初期の段階, すなわち癌細胞と血管内皮との接着相互作用に, RGDS 誘導体はその後の脈管外への脱出, 浸潤の過程に関与しているものと考えられる。

- 5) 中山朋子, 長尾則男, 江藤哲也, 三羽信比古, 済木育夫, 今村 博, 植村勝男, 蔭山勝弘, 伊藤 忍, 小方英二: アスコルビン酸の細胞機能 I: 癌浸潤・転移の抑制効果, 日本薬学会第116年会, 1996, 3, 27-29, 金沢.
- 6) 江藤哲也, 中山朋子, 松原 大, 長尾則男, 三羽信比古, 済木育夫, 明渡 均, 新貝清子, 伊藤 忍, 小方英二: アスコルビン酸の細胞機能 II: 癌浸潤・転移の抑制機構, 日本薬学会第116年会, 1996, 3, 27-29, 金沢.
- 7) 西川尚之, 森 秀登, 奥 直人, 徳留嘉寛, 小池知恵子, 岡田昌二, 済木育夫: 細胞接着性ペプチ

ド担持リポソームの癌転移抑制効果, 日本化学会第70春季年会, 1996, 3, 28-31, 東京.

- 8) 木村文成, 藤猪英樹, 猪部 学, 村田 純, 村上正晃, 大西康晴, 東 市郎, 上出利光, 済木育夫: B7-1 (CD80) 遺伝子を導入した癌細胞ワクチンによる転移抑制効果, 第5回がん転移研究会, 1996, 4, 18-19, 東京.

【目的】近年, T 細胞を有効に活性化するには, T 細胞レセプターを介するシグナルに加えて, B7 分子を介した T 細胞表面上の CD28 や CTLA-4 分子からのシグナルが重要であることが明らかとなった。我々は, B7 分子を発現していないマウス B16-BL6 メラノーマ細胞に B7 (CD80) 遺伝子を導入した細胞株 (B7+BL6) を樹立し, 実験的肺転移モデルにおいて, 遺伝子導入細胞が親細胞に比べて有意な転移結節数の減少と生存期間の延長を示すことを明らかにした。今回, 不活化した B7+BL6 細胞 (癌ワクチン) を用いて抗腫瘍免疫を誘導することにより, B7-BL6 細胞による実験的および自然肺転移に対する抑制効果を検討した。

【方法・結果】1) X 線照射し不活化した B7+BL6 細胞をマウスの皮下に 7 日間隔で 2 回接種した。その 7 日後に尾静脈より viable な B7-BL6 細胞を移入し 2 週間目に肺の転移結節数を観察した。その結果, B7-BL6 細胞で免疫することにより, 肺への転移数の有意な減少が認められた。2) マウス右足蹠部に B7-BL6 細胞を移植し, 翌日から 7 日間隔で 2~4 回, 不活化 B7+BL6 細胞を皮下接種した。その結果, 不活化 B7+BL6 細胞により免疫したマウスでは, 免疫の回数に依存して B7-BL6 細胞の肺への転移が抑制された。

【考察】以上の結果より, 癌細胞への接着分子の強制発現とそれを用いた癌ワクチンの応用, 特に外科手術後の微小転移の治療および再発予防への有効性が示唆される。詳細なメカニズムおよびより効果的な免疫方法等について現在検討中である。

- 9) 鮎川幸一, 村田 純, 済木育夫: マウス B16 メラノーマ細胞の肺転移に及ぼす神経ペプチド α -MSH の抑制効果とその作用機序の解析, 第5回がん転移研究会, 1996, 4, 18-19, 東京.

【目的】神経ペプチド α -MSH (α -Melanocyte Stimulating Hormone) は, メラノーマ細胞に対し,メラニン形成促進, 細胞内 cAMP の上昇などの作用を有し, 組織においては高転移性メラノーマ細胞の浸潤端にその発現が認められている。今回, メラノーマ細胞の浸潤・転移における α -MSH の効果を, 転移能の異なる 2 つの細胞株 B16-BL6 (高転移), B16-F1 (低転移) を用いて比較検討した。

【方法, 結果】 α -MSH は B16-BL6 細胞の Matrigel (再構成基底膜) への浸潤を濃度依存的に阻害し, 10^{-6} M で 75 % の抑制効果を示したが, 同濃度での B16-F1 細胞に対する阻害率は 35 % 程度であった。癌細胞の接触走化性 (haptotaxis) を検討した結果, α -MSH は 10^{-6} M の濃度で BL6 細胞の fibronectin 及び laminin 基質への移動を 50 % 以上阻害したが, F1 細胞の両基質への移動に顕著な抑制効果を示さなかった。Gelatin zymography より, α -MSH は BL6 及び F1 細胞からの MMP-9 の産生を 40 % 程度阻害した。 10^{-6} M の α -MSH を BL6 細胞と同時にマウスに投与した場合, 実験的肺転移は 50 % 抑制されたが, F1 細胞による肺転移は阻害されなかった。 α -MSH は, 今回実験に用いた何れの濃度においても, 癌細胞の増殖及び Matrigel, fibronectin 基質への接着に影響を与えなかった。

【考察】 α -MSH は, 低転移性 F1 細胞と比較して, 高転移性 BL6 細胞の基底膜浸潤, 特に運動性を著明に阻害することにより, 肺転移を抑制する可能性が示唆された。

10) 奥 亨, 阿多直美, 藤猪英樹, 品川 朗, 藤本 昇, 青木隆則, 新谷 孝, 米沢佳代子, 東海秀明, 岩田和土, 済木育夫: 遺伝子組み換え型ヒト TIMP-2 の抗転移効果とその作用機構, 第 5 回がん転移研究会, 1996, 4, 18-19, 東京.

遺伝子組み換え型ヒト TIMP-2 のガン転移抑制効果とその作用機構を B16-BL6 マウスメラノーマ細胞と HT-1080 ヒト線維肉腫細胞を使用して, 検討したので報告する。

1) 0.01-100 μ g/ml の範囲で, 用量依存的に癌細胞の Haptotactic invasion (Matrigel/FN あるいは Matrigel/LM) を抑制した。その効果は癌細胞がいずれであっても, また, 基質が FN でも LM でも同等であった。2) 0.01-100 μ g/ml の範囲では Haptotactic migration (FN あるいは LM) をほとんど抑制しなかった。3) MMPs-2 および -9 のゼラチン分解を用量依存的に抑制した。4) ヒト線維肉腫細胞 HT-1080 の MMPs-2 および -9 産生をほとんど抑制しなかった。5) B16-BL6 を使用したマウス実験的肺転移モデルで, 単回 (腫瘍静脈内移植直後) および移植前後 5 回投与 (-2~2 日目) で, 肺転移抑制効果を認めた。しかしながら, 単回投与群と比較して, 頻回投与群の方がその抑制効果は顕著で, 用量依存的であった。いずれの投与経路 (iv, ip, im, sc) でもほぼ同程度の転移抑制 (投与量が 100-1000 μ g/mouse で 82-88 % 阻害) を観察したが, sc 投与が比較的強かった。

11) 藤猪英樹, 小池千恵子, 小幡亜矢, 村田 純, 木曾 真, 長谷川 明, 駒澤宏幸, 東 市郎, 岡田昌二, 奥 直人, 済木育夫: 癌細胞の標的臓器の微小管内への着床に及ぼすシアリルルイス X (SLe^x) および RGDS ペプチド誘導体の効果とその機構の解析, 第 5 回がん転移研究会, 1996, 4, 18-19, 東京.

我々は, 合成 RGDS 誘導体がメラノーマ細胞の自然肺転移を著明に抑制することを既に報告してきた。さらにポソーム化 SLe^x は, RGDS 誘導体と同様に実験的肺転移を抑制することも見出した。この転移抑制機構を解析するため, 癌細胞の標的臓器の微小管内への着床 (arrest) に及ぼす RGDS 誘導体および SLe^x の効果を PET (ポジトロン CT) により解析を行った。その結果, 放射標識した癌細胞を移入後 90 分間に, リポソーム化 SLe^x は癌細胞の肺への集積を強く抑制したが, Ar (DRGDS)₃ や, セレクチンにより認識されないリポソーム化 Me-SLe^x では抑制を示さなかった。一方, 癌細胞の基底膜浸潤は, Ar (DRGDS)₃ により顕著に阻害されたが, SLe^x および Me-SLe^x では影響がなかった。脈管内に侵入した癌細胞は, 炎症部位への白血球の遊走時の白血球-血管内皮細胞間に関わる接着分子群と類似あるいは同様の機構を利用している可能性が考えられ, SLe^x は転移過程の比較的初期の段階, すなわち癌細胞と血管内皮との相互作用に, RGDS 誘導体はその後の脈管外への脱出, 浸潤の過程に関与しているものと考えられる。

12) 柏村直樹, 済木育夫, 村田 純, 北川 優, 土井田貴子, 辻 淳一, 野間誠司, 出口修平, 龍田邦明, 三浦昌三, 藤原 剛, N.E.ニファントエフ, 市石さゆり, 稲垣 穰, 西川司朗: 脂溶性糖質誘導体の細胞接着阻害活性 (第 6 報), TK-50 のメラノーマ細胞の接着阻害とベンジル体の構造-活性相関について, 日本農芸化学会 1996 年度大会, 1996, 4, 27-29, 京都.

13) 大西康晴, 藤猪英樹, 猪部 学, 木村文成, 村田純, 村上正晃, 上出利光, 坂本 隆, 田沢賢次, 藤巻雅夫, 済木育夫: B7-1 (CD80) 遺伝子を導入した癌細胞ワクチンによる転移抑制効果, 第 17 回癌免疫外科研究会, 1996, 5, 30-31, 大津.

14) 奥 亨, 阿多直美, 藤猪英樹, 品川 朗, 藤本 昇, 青木隆則, 新谷 孝, 米沢佳代子, 東海秀明, 済木育夫: 遺伝子組み換え型ヒト TIMP-2 の抗転移効果とその作用機構, 文部省がん重点ワークショップ「癌化学療法の分子標的」, 1996, 6, 8, 名古屋.

15) 藤猪英樹, 猪部 学, 村上正晃, 木村文成, 大西康晴, 村田 純, 東 市郎, 羽室淳爾, 上出利光, 済木育夫: B7-1(CD80) 遺伝子を導入した癌細胞ワクチンによる転移抑制効果, 文部省がん重点ワークショップ「癌化学療法分子標的」, 1996, 6, 8, 名古屋.

16) 村田 純, 済木育夫: フィブロネクチン由来組み換えペプチドによる細胞認識と機能制御, 日本生化学会北陸支部シンポジウム「細胞外基質による細胞機能の調節」, 1996, 6, 21, 富山.

フィブロネクチン中に存在する細胞接着ドメインペプチド(C-274)とヘパリン結合ドメインペプチド(H-271)を融合させたキメラペプチド(CH-271), 及びその変異ペプチド(CHV)を遺伝子工学的に作製し, これらを用いて癌転移過程における癌細胞機能(接着, 伸展, 運動性)の制御機構を解析した.

マウスにおいて顕著な癌転移抑制効果を有するCH-271は, フィブロネクチンと同様に癌細胞の伸展と接着斑(focal contact)の形成, 及び細胞の走化性(chemotaxis)を誘導したが, C-274 或いは H-271 では, これら細胞機能の促進は認められなかった. 癌細胞のCH-271への走化性は, 細胞接着コア配列ペプチド(RGDS), 或はそのレセプター(integrin α_5 , α_3 , β_1)に対する抗体の添加により阻害された. 癌細胞をheparitinase Iで前処理した場合, この細胞のCH-271への移動は抑制された. CH-271のヘパリン結合部位に存在する第13番目のタイプIIIモジュールを欠損させることにより, 癌細胞の伸展と接着斑の形成, 及び細胞の走化性は, CH-271の場合と比較して著しく減少した. 癌細胞表面上のインテグリンレセプター及びグリコサミノグリカンが, CH-271ペプチド内の細胞接着ドメイン及びヘパリン結合ドメインをそれぞれ認識し, 細胞の接着, 伸展, 運動性などの機能の発現を誘導していることを明らかにした. これらの活性の発現には, ヘパリン結合部位に存在する第13番目のタイプIIIモジュールが重要であることが示唆された. 以上の結果は, CH-271がC-274 或いは H-271と比較して著明な癌転移抑制効果を示した要因の一つであると考えられる.

17) 大西康晴, 藤猪英樹, 木村文成, 村田 純, 新井英樹, 坂本 隆, 田沢賢次, 藤巻雅夫, 佐藤裕二, 近藤正男, 内野純一, 済木育夫: マウスの結腸癌の肝への高転移株の樹立とその転移・浸潤能の解析, 第48回日本消化器外科学会, 1996, 7, 18-19, 東京.

【目的】マウス Colon 26 結腸癌の肝への高転移株を

樹立し, 親株と高転移株の転移・浸潤能について *in vitro* で解析した.

【方法・結果】親株の Colon26 (以下 P) を BALB/c マウスに門脈内注入し, 形成した肝転移巣より腫瘍細胞を採取し培養した. 同手技を5回繰り返すことにより高肝転移株(L5)を作成した. トランスウェル・チャンバーを用いて, 癌細胞の基底膜への浸潤および細胞外基質成分への移動能を検討した結果, L5の浸潤能・移動能はPに比べて有意に強かった. セラチナーゼ活性により癌細胞由来の酵素分解活性を検討した結果, L5ではPの約7倍の72kDゼラチナーゼ活性が認められた.

【結語】Colon26 結腸癌を用い, 肝転移を継代することで高肝転移株を樹立した. L5はPに比べて浸潤能・移動能が強く, セラチナーゼ活性の亢進が観察された. L5を門脈内投与する肝転移モデルは, 術後の微小転移の治療および再発予防を検討するモデルとして有用であると考えられた.

18) Kasimura N., Kitagawa M., Noma S., Tsuji J., Deguchi S., Toida T., Nishikawa S., Inagaki M., Katsunaga T., Kurono M., Kioka N., Akiyama S., Murata J., Saiki I., Miura S., Tatsuta K., Nifant'ev N.E., Fujiwara T., Tanimoto T., Kazumi K., Kanno K. and Hatanaka K.: Novel inhibitory effect on cell adhesion and antiinflammatory of some partially protected carbohydrate derivatives. XVIII International Carbohydrate symposium, 1996, 7, 21-26, Milano, Italy.

19) 柏村直樹, 北川 優, 野間誠司, 辻 淳一, 出口修平, 土井田貴子, 勝永智也, 西川司郎, 村田 純, 済木育夫, 木岡紀之幸, Akiyama S., 龍田邦明, 三浦昌三, 小泉京子, 谷本敏子, Nifant'ev N.E., 藤原 剛, 菅野憲一, 畑中研一: 脂溶性糖質誘導体の血管内皮細胞接着分子発現および癌細胞接着におよぼす影響, 第18回糖質シンポジウム, 日本糖質学会, 1996, 8, 19-21, 東京.

20) 済木育夫: シンポジウム「プロテアーゼとインヒビターの最前線」, 癌の浸潤・転移における膜結合型アミノペプチターゼN(CD13)の役割, 第1回病態と治療におけるプロテアーゼとインヒビター研究会, 1996, 8, 20, 名古屋.

癌細胞が結合組織に浸潤する際, 組織構成成分(フィブロネクチン, ラミニン, コラーゲン, ヘパラン硫酸など)に接着した後, 種々の癌細胞由来のプロテオグリカン分解酵素あるいはタンパク分解酵素により破

壊を受け、その結果癌細胞の移動・浸潤が起こる。また、細胞外マトリックスや基底膜と癌細胞との相互作用は癌細胞由来の分解酵素の産生や活性化の調節・制御に深く関係している。従って、種々の酵素の産生や活性を阻害あるいは制御することにより、癌細胞の浸潤・転移のカスケードのいくつかの段階に影響を与えることが可能であるかも知れない。

アミノペプチダーゼ (APase) の阻害剤であるベスタチン (BS) が、癌細胞由来のIV型コラゲナーゼ活性を阻害すること、その結果として、再構成基底膜 (マトリジェル) への転移性癌細胞の浸潤を抑制することを明らかにした。さらに、アミノペプチダーゼの1つである膜結合型アミノペプチダーゼN (APaseN/CD13) に着目し、抗CD13抗体を用いて癌細胞の浸潤・転移におけるAPaseN/CD13の役割について解析した。APaseN/CD13を発現しAPase活性を示すヒト腎臓癌細胞株SN12Mを含む3種の転移性癌細胞のマトリジェルへの浸潤は、BS及び抗CD13抗体によって濃度依存的に抑制された。一方、細胞外マトリックス成分への癌細胞の接着能や運動・移動能にはBS及び抗CD13抗体の影響は観察されなかった。抗CD13抗体はBSと同様に癌細胞のAPase活性及びIV型コラゲナーゼ活性を濃度に依存して阻害した。癌細胞がマトリジェル内へ浸潤する際に浸潤先端 (invasion edge, invadopodia) にAPaseN/CD13が局在していた。また、ヒト癌細胞にAPaseN/CD13遺伝子を導入し高発現させることにより、in vitroの基底膜浸潤およびIV型コラゲンの分解活性が促進した。この遺伝子導入癌細胞をヌードマウスに移植することにより、対照の癌細胞に比較して有意に肺への転移が増強されることが明らかとなった。

以上の結果から、APaseN/CD13は癌細胞の浸潤時の微小環境下において、効率的に細胞外マトリックスの分解、IV型コラゲナーゼの活性化などに関与していることが考えられ、その重要性が示唆された。アミノペプチダーゼのインヒビターであるベスタチンはマウスの転移性癌細胞 (B16-BL6メラノーマあるいは3LL肺癌) の転移を抑制した成績から、酵素阻害に基づく浸潤抑制がその機序の一つであると考えられる。

21) 大西康晴, 藤猪英樹, 木村文成, 三嶋敬章, 村田純, 田沢賢次, 藤巻雅夫, 岡田 太, 細川真澄男, 済木育夫: 十全大補湯の経口投与による癌の悪性化進展 (プログレッション) の抑制効果, 第13回和漢医薬学会大会, 1996, 8, 31-9, 1, 東京。

【目的】発生した癌細胞が増殖していく過程で様々な因子の影響を受け、より悪性度の高い細胞集団へと変

化し、浸潤・転移を引き起こす現象 (悪性化進展: プログレッション) は、癌の診断及び治療の上で極めて重要な課題である。しかしながら、プログレッションを観察できる実験モデルの確立が遅れていたために、プログレッションの機構、促進因子及び抑制物質の開発に焦点を当てた研究は少ない。我々は、メチルコラシレン誘発の自然退縮型癌細胞が種々の要因により生体内で致死的増殖性を獲得する実験モデルを用いて、癌のプログレッションに及ぼす十全大補湯 (株ツムラ, TJ-48) の効果を検討したので報告する。

【方法・結果】C57BL/6マウス線維肉腫より分離したQR-32退縮型癌細胞は、正常同系マウスに皮下あるいは静脈内移植すると自然退縮するが、異物であるゼラチンスポンジと同時に皮下移植することにより、致死的増殖性を獲得した癌細胞 (QRsP癌細胞) に不可逆的に変換する。(1) QR-32癌細胞とゼラチンスポンジを同時皮下移植後、十全大補湯 (40 mg/day) を7日間にわたり経口投与した結果、対照群に比較して有意に腫瘍増殖の抑制と生存期間の延長が観察された。(2) 腫瘍移植後、十全大補湯 (4, 20, 40増殖抑制が認められた。(3) 十全大補湯 (40 mg/day) を腫瘍移植前の7日間、移植後の7日間、あるいは8日目より7日間経口投与した結果、移植前投与群と移植1日目より7日間投与した群において、有意な腫瘍径の縮小がみられた。(4) 得られた増殖型QRsP癌細胞はゼラチンスポンジなしに移植した皮下で増殖したが、移植後7日間の十全大補湯 (40 mg/day) の経口投与により、腫瘍の増殖は対照群に比較して有意に抑制された。しかし、その効果はゼラチンスポンジにより誘導されるQR-32癌細胞の増殖型への悪性変換に及ぼす効果ほど著明ではなかった。

【結論】以上の結果より、十全大補湯は癌のプログレッションを抑制することが明らかとなり、癌の悪性化変換の初期の段階に作用する可能性が示唆された。

22) Fujii H., Inobe M., Kimura F., Murata J., Murakami M., Onishi Y., Azuma I., Uede T. and Saiki I.: Vaccination of tumor cells transfected with B7-1 (CD80) gene induces the antimetastatic effect and tumor immunity in mice. Sixth International Congress of the Metastasis Research Society, 1996, 9, 8-11, Belgium.

23) Murata J., Ayukawa K., Fujii H. and Saiki I.: α -Melanocyte stimulating hormone (α -MSH) blocks invasion of reconstituted basement membrane (Matrigel) by murine B16

melanoma cells. Sixth International Congress of the Metastasis Research Society, 1996, 9, 8-11, Belgium.

- 24) Ohnishi Y., Fujii H., Kimura F., Mishima T., Murata J., Tazawa K., Fujimaki M., Okada F., Hosokawa M. and Saiki I.: Inhibitory effect of oral administration of a traditional Chinese medicine, Juzen-taiho-to on malignant tumor progression. Sixth International Congress of the Metastasis Research Society, 1996, 9, 8-11, Belgium.
- 25) 大西康晴, 藤猪英樹, 木村文成, 村田 純, 田沢賢次, 藤巻雅夫, 岡田 太, 細川真澄男, 済木育夫: 癌の悪性化進展モデルにおける十全大補湯の抑制効果, 第55回日本癌学会総会, 1996, 10, 10-12, 横浜.
- 26) 鮎川幸一, 村田 純, 済木育夫: マウス B16 メラノーマ細胞の基底膜浸潤及び肺転移に及ぼす神経ペプチド: α -MSH の影響, 第55回日本癌学会総会, 1996, 10, 10-12, 横浜.
- 27) 藤猪英樹, 村田 純, 君塚房夫, 東 市郎, 加藤郁之進, 済木育夫: 癌細胞の移動・進展におけるフィブロネクチン由来の機能性ドメインの役割, 第55回日本癌学会総会, 1996, 10, 10-12, 横浜.
- 28) 三嶋敬章, 村田 純, 林 利光, 加藤敏光, 済木育夫: 藍藻類: Spirulina 由来の硫酸化多糖: Calcium spirulan (Ca-SP) による癌浸潤, 転移の抑制, 第55回日本癌学会総会, 1996, 10, 10-12, 横浜.

【目的】種々の硫酸化多糖を用いて癌転移抑制の試みがなされているが, その抑制効果及び作用機序は多様である。今回, 我々は藍藻類: Spirulina より, ラムノース及びフルクトースを主成分とし Ca^{2+} を配位した硫酸化多糖: Calcium spirulan (Ca-SP) を単離し, これを用いて癌細胞の浸潤, 転移に及ぼす効果を検討した。これを用いて癌細胞の浸潤, 転移に及ぼす効果を検討した。

【方法, 結果】Ca-SP は, マウス B16-BL6 メラノーマ細胞の Matrigel (再構成基底膜) への浸潤を濃度依存的に阻害した。細胞接着実験において, Ca-SP は, B16-BL6 細胞の Matrigel 及び Laminin 基質への接着を濃度依存的に抑制したが, Fibronectin への接着に影響は認められなかった。癌細胞の Laminin への接着を詳細に検討した結果, 細胞を予め Ca-SP で前処置することにより接着は有意に抑制されたが, 基質である Laminin を Ca-SP で前処置した場合には接着阻

害効果は得られなかった。Ca-SP を B16-BL6 細胞と同時にマウスに静脈内注射した場合, その実験的肺転移は用量依存的に抑制された。今回実験に用いた何れの濃度においても, Ca-SP による増殖阻害は認められなかった。

【考察】Ca-SP は, マウス B16-BL6 メラノーマ細胞による実験的肺転移を抑制し, その作用機序として癌細胞の基底膜浸潤の抑制, 特に Laminin への接着阻害の可能性が示唆された。

- 29) 奥 直人, 小池千恵子, 藤猪英樹, 村田 純, 木曾 真, 長谷川 明, 駒澤宏幸, 塚田秀夫, 岡田昌二, 済木育夫: 転移性癌細胞の生体内動態のリアルタイム PET 解析, 第55回日本癌学会総会, 1996, 10, 10-12, 横浜.
- 30) Ohnishi Y., Fujii H., Kimura F., Sakukawa R., Hayakawa Y., Murata J., Tazawa K., Fujimaki M., Sato Y., Kondo M., Uchino J. and Saiki I.: Characterization of liver metastatic variant of murine colon 26 carcinoma. The First International Conference on Gastroenterological Carcinogenesis in conjunction with the Sixth Hiroshima Cancer seminar, 1996, 10, 22-24, Hiroshima.
- 31) Andoh T., Nagasawa T., Hayashi K. and Kuraishi Y.: Endogenous nitric oxide modulated Substance P-induced itch-related behavior. Society for Neuroscience, 1996, 11, 16-21, Washington, D.C.
- 32) 済木育夫: 特別講演「細胞接着の制御と癌転移の抑制」, 第3回消化器癌転移研究会, 1996, 11, 29, 大阪.

◇ 著 書

- 1) 済木育夫: 第 III 章 病態, 9. 腫瘍と浸潤・転移, 「細胞外マトリックス」~臨床医学への応用~, 渡邊明治, 岡崎 勲/編, 267-267, メディカルレビュー社, 1996.
- 2) Nishikawa N., Komazawa H., Kojima M., Ono M., Itoh, I., Saiki I., Fujii H., Azuma I., Nishi N. and Tokura S.: Effect of the substituent groups of SCM-chitin-RGDS conjugate on inhibitory activity of tumor metastasis. In Nishi N. (ed.), Peptide Chemistry 1995, pp 389 - 392, Protein Research Foundation, Osaka, 1996.
- 3) 済木育夫: 浸潤, メディカル用語ライブラリー「癌」分子メカニズムから病態・診断・治療まで,

垣添忠生, 関谷剛男/編, 106-108, 羊土社, 1996.

- 4) 濟木育夫: VI. 癌細胞増殖・進展の人工的制御, 4. 細胞接着ペプチドによる癌転移の抑制, 「腫瘍学」, 佐藤昇志, 菊池浩吉/編, 428-443, 中外医学社, 1996.
- 5) 濟木育夫: 第3章 癌と細胞接着, 5. インテグリン-細胞外マトリックス相互作用の制御と癌転移の抑制, 「細胞接着研究の最前線」シグナル伝達から癌転移への関与まで, 実験医学増刊, 佐邊壽孝, 月田承一郎/編, 180-186, 羊土社, 1996.
- 6) 濟木育夫: III. 接着分子の実験技術, 5. ハプトタキシス測定法とその応用, 「接着分子」臨床病理と実験技術, 臨床病理 臨時増刊, 日本臨床病理学会/編, 126-132, 臨床病理刊行会, 1996.
- 7) 濟木育夫: 究極の完全食品 スピルリナ, 高輪出版社, 1996.
- 8) Ohnishi Y., Fujii H., Kimura F., Sakukawa R., Hayakawa Y., Murata J., Tazawa K., Fujimaki M., Sato Y., Kondo M., Uchino J. and Saiki I.: Characterization of liver metastatic variant of murine colon 26 carcinoma cells. In Takahara E. Sugimachi K. Oohara T. (ed.), Recent advances in Gastroenterological Carcinogenesis I, pp 913-919, Monduzzi Editore, Italy, 1996.

◇ 総説及びその他

- 1) 濟木育夫: 第16回癌免疫外科学会 特別講演II 「細胞接着の制御と癌転移の抑制」細胞接着相互作用の阻害と亢進, *BIO THERAPY*, 10 (5), 710-719, 1966.
- 2) 濟木育夫: 特集「転移関連分子とその制御」, 11. 接着阻害剤による転移の阻止, *血液・免疫・腫瘍*, 1 (4), 93-100, 1996.
- 3) 濟木育夫: 藤井秀二, 中島元夫: 第1回病態と治

療におけるプロテアーゼとインヒビター研究会, シンポジウム「プロテアーゼとインヒビターの最前線」, 癌の浸潤・転移における膜結合型アミノペプチターゼ N (CD13) の役割, *Modern Physician*, 16 (12), 1569-1570, 1996.

- 4) 大西康晴, 藤猪英樹, 木村文成, 三嶋敬章, 村田純, 田澤賢次, 藤巻雅夫, 岡田 太, 細川真澄男, 濟木育夫: 十全大補湯の経口投与による癌の悪性化進展 (プログレッション) の抑制効果, *和漢医薬学雑誌*, 13: (4), 372-373, 1996.

◇ その他の活動

- 1) 濟木育夫: 細胞接着の制御と癌転移の抑制, 微生物化学研究所セミナー講演, 1996, 3, 29, 東京.
- 2) 濟木育夫: 第1回和漢薬研究所発表会, 発表, 1996, 5, 25, 富山.
- 3) 濟木育夫: 癌と十全大補湯, 天然薬物研究方法論アカデミー総会ならびに第2回白樺湖シンポジウム講演, 1996, 8, 3-5, 白樺湖.
- 4) 濟木育夫: 第1回和漢薬研究所夏季セミナー「和漢薬に触れる」, 実行委員長, 1996, 8, 28-30, 富山.
- 5) 濟木育夫: 富山医科薬科大学薬学部専門教育 講義「生理化学」, 1996, 9, 17, 富山.
- 6) 濟木育夫: 岐阜大学農学部 集中講義「分子薬理学」, 1996, 9, 18-21, 岐阜.
- 7) 濟木育夫: 富山医科薬科大学医学部専門教育 講義「免疫学」, 1996, 11, 20, 富山.
- 8) 濟木育夫: 富山医科薬科大学薬学部専門教育 講義「和漢薬論」, 1996, 12, 2, 富山.
- 9) 濟木育夫: 学術振興会 東南アジア諸国学術交流事業の拠点大学方式による派遣, バンドン工科大学薬学部, ガジャマダ大学, 講演, 1996, 12, 6, インドネシア.