

# Prevention of Hepatic Metastasis of Human Colon Cancer by Angiogenesis Inhibitor TNP-470

メタデータ	言語: jpn 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-11-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 田中, 達郎 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1501">http://hdl.handle.net/10271/1501</a>

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 224号	学位授与年月日	平成 7年12月 8日
氏名	田中達郎		
論文題目	Prevention of Hepatic Metastasis of Human Colon Cancer by Angiogenesis Inhibitor TNP-470 (血管新生阻害物質 TNP-470 によるヒト大腸癌肝転移抑制)		

博士(医学) 田中達郎

## 論文題目

Prevention of Hepatic Metastasis of Human Colon Cancer by Angiogenesis Inhibitor TNP-470

(血管新生阻害物質 TNP-470によるヒト大腸癌肝転移抑制)

## 論文の内容の要旨

固形腫瘍が活発な増殖を続け数 mm 以上に成育するためには血管新生が必要であることが知られている。腫瘍に誘導された新生血管は基底膜が未成熟なため膜透過性が亢進しており、腫瘍細胞の血管内移行が容易であることが推察され、実際に腫瘍内の血管密度と転移との関連性が種々の癌で報告されている。更に標的臓器に到達した腫瘍細胞が生着増殖するためには同所での血管新生が必要となる。この二つの過程において腫瘍の転移に血管新生が関与する事が推察され、血管新生阻害物質が新しい機序の制癌剤、癌転移抑制剤になることが期待される。このため過去に様々な血管新生抑制物質が試みられてきたが、副作用の問題等満足のゆく結果は得られなかった。血管新生阻害物質フマギリンの誘導体である TNP-470は特異的に血管内皮細胞の増殖を阻害し、非常に低い IC<sub>50</sub> 値をもつ静細胞的増殖抑制を有し、極めて高濃度で初めて殺細胞作用を認めるという特徴を示し、塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF)、血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) による増殖刺激に対しても双方に増殖抑制作用を示す。我々はこのように血管内皮細胞増殖に特異的な阻害活性を有する TNP-470の癌増殖、転移抑制剤としての有効性を今回検討した。

ヌードマウスを麻酔下に開腹し、我々が樹立したヌードマウス継代ヒト大腸癌株 3 系 (TK 3, 4, 9) の小腸癌片を盲腸に縫着 (ヒト大腸癌同所再建肝転移モデル) し、6 週後に犠牲死せしめ、原発巣の腫瘍増殖と肝転移の有無を評価した。

TNP-470は腫瘍移植10日後より隔日に皮下投与した。ヌードマウス盲腸に同所移植したヒト大腸癌は全例移植部位に生着し、粘膜・粘膜下層に浸潤し、その近傍の脈管侵襲を認めた。肝転移巣での脈管内に腫瘍塞栓が同時に観察されたことより、ヒト生体内における大腸癌の浸潤・転移の全過程を良く反映したモデルと思われた。盲腸に移植した原発巣の実測腫瘍重量は両群間で差異を認めなかった (対照群: 0.45±0.29g, 治療群: 0.49±0.27g)。しかし、TNP-470は用量依存性に大腸癌肝転移を抑制した [対照群: 22 / 32 (68.9%)、TNP-470, 20mg / kg投与群: 3 / 10 (30%)、TNP-470, 30mg / kg投与群: 1 / 17 (5.9%)]。肝転移結節数に関しても用量依存性に転移抑制効果を認めた (対照群: 5.6±3.7, TNP-470, 20mg / kg投与群: 4.0±3.5, TNP-470, 30mg / kg投与群: 2.0)。30mg / kg投与群においてのみ体重増加を認めなかったが、重篤な副作用は認めなかった。

種々の動物モデルでの TNP-470の腫瘍増殖抑制効果が報告されているが、それらのモデルは全て皮下移植等の異所移植であり、我々も TKseries 腫瘍を皮下に移植した場合の TNP-470の異所移植腫瘍増殖抑制効果を確認している。しかし、腫瘍の微細環境をより良く反映した同所移植での今回の検討では腫瘍増殖抑制効果を認めなかった。即ち皮下に移植された腫瘍に比較し、同所移植された腫瘍ではその腫瘍増殖倍加時間が長くなっていることが、原因と考えられる。臨床応用を考える上でこの点は重要であり、原発巣や大きな転移巣に対する TNP-470の単独投与の有効性は期待できないと思われた。大腸癌の予後を大きく既定するものは術後の肝転移再発である。手術時に転移を認めなくとも、既に肝に微少転移が存在し、転移巣形成のため盛んな血管新生が同部でなされることが必要と考えられる。この

ような原発巣切除術後の肝転移抑制に対する投与方法が最も適切なものではないかと我々は考えている。今回唯一の副作用である体重増加減少は、癌年齢である成人では大きな問題とはならないものと考えられる。

TNP-470は広い抗腫瘍スペクトルを持ち、薬剤耐性の出現が無い、有望な癌転移抑制剤となりうる事が期待でき、今後臨床応用に向けて十分な検討が為されていく有望な薬剤と思われる。

## 論文審査の結果の要旨

悪性腫瘍が増殖するためには血管新生を必要とすることが知られている。また、転移には腫瘍細胞の増殖、血管内移行、血管外浸潤、更には転移臓器での生着増殖の過程を経るが、これらの過程においても血管新生が必要である。従って腫瘍の血管新生を阻害することを利用すれば、制癌効果、癌転移抑制効果が得られる可能性が高い。これまでに種々の血管新生抑制物質が試みられてきたが、副作用の問題等満足のゆく結果は得られなかった。しかし最近、血管新生阻害物質フマギリンの誘導体であるTNP-470が開発された。この薬剤は血管内皮細胞の増殖を特異的に阻害し、かつ比較的細胞の毒性が少ない血管新生阻害剤であり、新しい癌増殖、転移抑制剤として期待されている。

大腸癌は肝臓に転移しやすい腫瘍であり、その予防対策は大腸癌治癒率向上のために必須の急務である。申請者らは既にヌードマウスにおいて移植ヒト大腸癌細胞が特異的に肝臓に移転するモデルを確立している。そこでこのモデルを用い、血管内皮細胞増殖に特異的な阻害活性を有するTNP-470の癌増殖、転移抑制剤としての有効性について検討した。

申請者らが樹立したヌードマウス継代ヒト大腸癌株3系(TK 3, 4, 9)の小腸癌片をヌードマウス盲腸に縫着(ヒト大腸癌同所再建肝転移モデル)し、6週後に犠牲死せしめ、原発巣の腫瘍増殖と肝転移の有無を評価した。TNP-470は腫瘍移植10日後より隔日に皮下投与した。ヌードマウス盲腸に同所移植したヒト大腸癌は全例移植部位に生着し、粘膜・粘膜下層に浸潤し、その近傍の脈管侵襲を認めた。肝転移巣での脈管内に腫瘍塞栓が同時に観察されたことより、ヒト生体内における大腸癌の浸潤・転移の全過程を良く反映したモデルと思われた。盲腸に移植した原発巣の実測腫瘍重量はTNP-470投与有無で差異を認めなかった(対照群:  $0.45 \pm 0.29$ g, 治療群:  $0.49 \pm 0.27$ g)が、大腸癌肝転移に関してはTNP-470の用量依存性に抑制した[対照群: 22/32 (68.9%)、TNP-470, 20mg/kg投与群: 3/10 (30%)、TNP-470, 30mg/kg投与群: 1/17 (5.9%)]。肝転移結節数に関しても用量依存性に転移抑制効果を認めた(対照群:  $5.6 \pm 3.7$ , TNP-470, 20mg/kg投与群:  $4.0 \pm 3.5$ , TNP-470, 30mg/kg投与群: 2.0)。30mg/kg投与群においてのみ体重増加を認めなかったが、重篤な副作用は認めなかった。

TNP-470の腫瘍増殖抑制効果はすでに報告されているが、それらのモデルは全て皮下移植等の異所移植であり、申請者らもヌードマウス継代ヒト大腸癌株系を皮下に移植した場合のTNP-470の異所移植腫瘍増殖抑制効果を確認している。しかし、今回の同所移植(盲腸に移植した原発巣)での検討では腫瘍増殖抑制効果を認めなかった。これは皮下に移植された腫瘍に比較し、同所移植された腫瘍ではその腫瘍増殖倍加時間が長くなっていることが、原因と考えられた。

本研究から大腸癌の原発巣や大きな転移巣に対するTNP-470の単独投与の有効性は期待できないと思われた。一方、TNP-470は用量依存性に大腸癌肝転移を抑制した。大腸癌の予後を大きく規定するのは術後の肝転移再発である。手術時に転移を認めなくとも、既に肝に微少転移が存在している可能性もあり、このような場合における投与は肝転移を阻止し、大腸癌治癒率を向上させる可能性がある。

以上、申請者らが確立したヌードマウスヒト大腸癌同所再建肝転移モデルを用いて血管新生阻害物質フマギリンの誘導体である TNP-470の肝転移抑制を確認した。本研究は大腸癌治療において最も問題となる肝転移を抑制する方法に重要な示唆を与えるものであり、本研究の意義は大きいものと高く評価された。

申請者の発表に対し、次のような質疑が行われた。

- 1) 血管新生阻害物質 TNP-470の構造式とその血管新生抑制作用機序について
- 2) 血管新生阻害物質の肝転移抑制機序について
- 3) 新生血管ではどうして癌細胞が血管内に逸脱しやすいのか
- 4) 大腸癌肝転移全過程における血管新生過程の位置付けについて
- 5) 実験動物の管理状態・飼育方法について
- 6) 大腸癌の浸潤・転移に関与する他の諸因子について
- 7) 血管新生阻害物質 TNP-470の臨床応用の可能性について
- 8) 肝転移モデルにおいて肝転移以外の転移様式については観察されなかったか
- 9) 血管新生阻害物質 TNP-470の副作用は体重減少以外に観察されなかったか
- 10) 免疫欠損の無い実験動物での効果はどうか

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、問題も十分理解しており、博士（医学）の学位論文にふさわしいと審査員が全員一致して評価した。

論文審査担当者 主査 教授 寺 尾 俊 彦

副査 教授 高 田 明 和      副査 教授 筒 井 祥 博

副査 助教授 木 村 泰 三      副査 助教授 西 村 正 彦