

# Metronomic dosing of BH3 mimetic small molecule yields robust antiangiogenic and antitumor effects

メタデータ	言語: jpn 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2016-03-08 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 今井, 篤志 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/2920">http://hdl.handle.net/10271/2920</a>

博士(医学) 今井 篤志

論文題目

Metronomic dosing of BH3 mimetic small molecule yields robust antiangiogenic and antitumor effects

(低分子 BH3 模倣薬のメトロノーム投与は強い抗血管新生作用及び抗腫瘍作用を生む)

論文の内容の要旨

[はじめに]

頭頸部扁平上皮癌患者に対する分子標的薬と従来型化学療法薬の併用は、有望な効果が示されているものの劇的な予後改善には結びついていない。従来型化学療法薬の最大耐容量を用いた高濃度で低頻度のボラス型投与方法と比較して、低用量で高頻度に投与するメトロノーム型投与方法が高い抗腫瘍効果と少ない毒性の面から注目されている。しかし分子標的薬に関する知見はほとんどない。

Bcl-2 タンパク質は頭頸部腫瘍で高発現しており、治療抵抗性や予後不良の因子として知られている。細胞死抑制機能と血管新生亢進作用を持つ Bcl-2 を阻害することは、直接的な腫瘍細胞の細胞死促進と選択的に腫瘍栄養血管を途絶させる2つの効果が期待できる。

今回我々は、機能的 Bcl-2 阻害薬である綿花由来の低分子 BH3 模倣薬 AT101 [ (-)- gossypol ] を用いて、メトロノーム型投与方法の観点から抗血管新生作用及び抗腫瘍作用を調べた。

[材料ならびに方法]

細胞株はミシガン大学で樹立された UM-SCC-17B (喉頭癌) 、UM-SCC-74A (中咽頭癌) 、HDMEC (ヒト血管内皮細胞株; Lonza 社) を使用した。

*In vitro* では、細胞増殖抑制効果について AT101 と TXT (タキソテール) の3段階の濃度 (IC<sub>25</sub>、IC<sub>50</sub>、IC<sub>75</sub>) を各々組み合わせて評価した。薬剤を72時間曝露させてから10%トリクロロ酢酸で細胞を固定後、Sulforhodamine B で細胞内タンパク質と結合させ、その吸光度を測定した。AT101 の抗血管新生作用については RAIN (Responsive Angiogenic Implanted Network) - Droplet 検査を用いた。血管内皮細胞増殖因子で誘発した血管様の出芽数を測定して、3段階の濃度 {0.1 x IC<sub>50</sub> (0.08 μmol/L) 、IC<sub>50</sub> (0.8 μmol/L) 、10 x IC<sub>50</sub> (8 μmol/L) } と投与方法の違いで比較した。投与方法は4日間連続投与群と単回投与群に分けて、同じ総投与量になるように設定した。

*In vivo* ではヒト血管構造が構築されるスカフォールドを免疫不全マウスに移植して、I群: 生理食塩水 (コントロール) 、II群: 毎週 TXT (5 mg/kg) 、III群: 毎週 AT101 (70 mg/kg) + 毎週 TXT (5 mg/kg) 、IV群: 連日 AT101 (10 mg/kg) + 毎週 TXT (5 mg/kg) に分類して腫瘍増殖能を調べた。腫瘍組織を採取して H & E 染色で細胞分裂指数を、抗 factor VIII 抗体を用いた免疫染色で腫瘍血管密度を測定して比較した。尚、動物実験はミシガン大学の実験動物の管理と使用に関するガイドラインに従った。

[結果]

*In vitro* では IC<sub>75</sub> の AT101 と TXT との併用が頭頸部扁平上皮癌細胞株と HDMEC の細胞増殖能を相加的に抑制した。また AT101 の抗血管新生作用については、細胞死を促進しない低濃度 (0.1 x IC<sub>50</sub>) でも血管新生を抑制した (P < 0.0001)。更に、同じ総投与量にかかわらず、連続投与群が単回投与群より高い血管新生抑制の効果を示した (0.1 x IC<sub>50</sub>: P < 0.0001)。

*In vivo* ではIV群が、他群と比較して治療生存期間を延長させた {平均治療生存期間 (日); P 値 (対IV群)}; I 群: 30.6 日; P < 0.0001、II 群: 33.3 日; P < 0.0001、III 群: 37.3 日; P < 0.0290、IV 群: 48.5 日)。また病理組織学的検討においても細胞分裂指数の低下 {中間値 (%); P 値 (対IV群)}; I 群: 1.62 %; P = 0.0047、II 群: 1.35 %; P = 0.0047、III 群: 1.51 %; P = 0.0047、IV 群: 0.46 %) と、腫瘍血管密度の減少 {中間値 (個 / 200 倍視野) / P 値 (対IV群)}; I 群: 6 個; P = 0.0047、II 群: 5 個; P = 0.0047、III 群: 5 個; P = 0.0047、IV 群: 3 個を認めた。体重、主要器官 (肺、肝) に特筆すべき副作用を認めなかった。

[考察]

*In vitro* では、AT101 と TXT の併用による高い細胞増殖抑制効果と、低濃度の AT101 の持続投与方法による高い血管新生抑制効果を認めた。*In vivo* の病理組織学的検討では、IV群が他の投与群と比較して予後不良因子と関連する細胞分裂指数の低下を示した。さらにグリコーゲン蓄積を示唆する細胞質の淡明化は、腫瘍血管密度の低下による低酸素状態との関連と考えられた。これらの結果から、従来型化学療法薬の TXT と組み合わせた低分子 BH3 模倣薬 AT101 のメロノーム型投与方法は、高い抗血管新生効果と抗腫瘍効果につながると考えられた。

[結論]

低分子 BH3 模倣薬 AT101 のメロノーム型投与方法が、他の投与方法に比較して、強い抗血管新生作用及び抗腫瘍作用を示し、頭頸部癌治療に有効と考えられた。