The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	In vivo inhibition of tumour growth by dexamethasone in murine osteosarcomas
Author(s)	久田原, 郁夫
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44698
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【39】

氏　　名	久田原（くだわら）　郁夫（いくお）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　18036　号
学位授与年月日	平成15年5月30日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	*In vivo* inhibition of tumour growth by dexamethasone in murine osteosarcomas （マウス骨肉腫におけるデキサメタゾンによる腫瘍増殖抑制）
論文審査委員	（主査） 教　授　吉川　秀樹 （副査） 教　授　越智　隆弘　　教　授　野口眞三郎

論文内容の要旨

[目的]　グルココルチコイド剤による治療は白血病やリンパ腫などの血液疾患においては確立されているが、肉腫においては未知である。骨肉腫は近年の強力な化学療法と手術の組み合わせで予後は飛躍的に改善した。しかし、化学療法に対して反応が不良な症例は存在し、これらは高率に転移が出現し不良な転帰をとる。骨肉腫のグルココルチコイド剤の反応性をマウス骨肉腫を用いて腫瘍増殖の抑制効果を検討する。

[方法ならびに成績]　Dunn骨肉腫細胞 1×10^7 個をC3Hマウス4週令雄の皮下に移植し腫瘍を作成した。形成された腫瘍を同じ系列のマウスに移植、継代した。腫瘍の発育が安定した4-6代目の腫瘍を用い直径 3 mm の腫瘍組織を同系統のマウスの皮下に移植しこれらを実験対象とした。

ステロイド治療群はデキサメタゾンをステロイド溶解液で溶解し1.25μg/g（マウス体重）と 5μg/g の2種類の量設定し、1日1回0.1 ml腹腔内投与した。コントロール群はステロイド溶解液のみの投与とした。治療は、腫瘍を移植した当日（0日）より開始し14日連続投与とした。

またステロイド受容体の拮抗剤であるミフェプリストンをデキサメタゾン 5μg/g 投与群に併用した。コントロール群としてミフェプリストンのみ投与群とステロイド溶解液のみの投与群を設定した。

腫瘍は経時的にカリパーを用い3方向を計測した。14日目にマウスを屠殺し、腫瘍重量とマウスの体重を測定した。最終的な腫瘍重量は腫瘍重量/屠殺時のマウスの体重と定義した。摘出した腫瘍組織は 20%ホルマリンで固定しパラフィンに封埋し 4μm に切りヘマトキシリン　エオジンで染色し、免疫組織化学染色として PCNA (proliferative cell nuclear antigen) をデキサメタゾン 5μg/g 投与群とコントロール群に、ステロイド受容体に対する抗体（M-20）をコントロール群におこなった。

腫瘍の増殖曲線、14日目の最終腫瘍重量、体重をおのおの repeated measure ANOVA、two-factor factorial ANOVA、および Mann-Whitney test（Stat View J 4.5、Macintosh）によって統計学的処理をおこなった。最終腫瘍重量におけるミフェプリストンの効果には Student's t-test を PCNA の陽性率は Mann-Whitney test をもちいた。

デキサメタゾン投与群では 1.25μg/g と 5μg/g 両群ともに腫瘍増殖曲線において腫瘍増殖抑制効果がみられた（$p<0.0001$）。最終腫瘍重量の評価でもデキサメタゾン投与群のほうが有意に低値であった。そしてこれらの抑制効果は濃度依存性であった。またミフェプリストンはデキサメタゾン 5μg/g 投与群における腫瘍増殖抑制効果を阻害し

た（p＝0.0014）。

摘出した組織標本ではDunn骨肉腫の形態が維持されており、腫瘍細胞の核にM-20が陽性であった。PCNA陽性率はデキサメタゾン 5μg/g投与群で22.7%でコントロール群の67%に比べ有意に低値であった（p＝0.009）。

デキサメタゾンの毒性は重度の症状はみられなかったが体重減少がみられた（p＜0.0001）。

［総括］ 固形腫瘍に対するグルココルチコイド剤による腫瘍増殖抑制効果は、肺癌や乳癌などいくつかの腫瘍で報告があるが臨床応用されたものはない。特に動物実験での骨肉腫に対するグルココルチコイド剤の効果を証明した報告は今までにない。すでに骨肉腫は強力な全身化学療法と局所の腫瘍広範切除により予後は飛躍的に改善し治療法は標準化されているが、化学療法に対する反応性の悪い症例約30%は存在しこれらは遠隔転移をおこす可能性が高い。従って、新しい有効な薬剤がなく標準治療薬の増量がこれ以上できない現在なんらかの補助療法がのぞまれるところである。

今回の実験ではデキサメタゾンによるマウス骨肉腫の腫瘍増殖の抑制効果が動物モデルで証明された。また、使用した骨肉腫細胞にステロイド受容体の存在が証明され、かつステロイド受容体拮抗剤によりデキサメタゾンの腫瘍増殖抑制効果が阻害されるのでその機序はステロイド受容体を介したものと考えられる。ステロイド受容体を介したアポトーシスが白血病やリンパ腫で知られているが、今回の実験では治療群コントロール群ともにアポートシスの頻度には明らかな差はみられなかった。またPCNAの陽性率が治療群で低値であることより腫瘍細胞の増殖能の低下が引き起こされたと判断される。従ってこれらの量のデキサメタゾンはヒト骨肉腫に対しても同様の効果が期待できると考えられる。しかし今回使用した系は転移をおこさない系であるので転移抑制を証明した実験ではなく臨床上最も重要な微少転移の抑制効果については未知である。デキサメタゾンの副作用として体重減少がみられたがこれは成長阻害によるものと考えられる。またグルココルチコイド剤は免疫抑制作用があるので、既知の化学療法剤とどのよう組み合わせ臨床応用するかは投与量も含めさらなる検討を要する。

論文審査の結果の要旨

化学療法の進歩により、骨肉腫の生存率は向上したが、なお予後不良例が存在する。本研究では、グルココルチコイドによるマウス骨肉腫における治療効果を検討した。Dunn骨肉腫細胞をマウス皮下に移植し腫瘍を作成し、デキサメタゾン1.25μg/g、5μg/gを1日1回0.1 ml、14日連続腹腔内投与した。ステロイド受容体の拮抗剤であるミフェプリストンをデキサメタゾン 5μg/g 投与群に併用した。デキサメタゾン投与群では用量依存性に腫瘍増殖抑制効果がみられた（p＜0.0001）。ミフェプリストンはデキサメタゾンにおける腫瘍増殖抑制効果を阻害した（p＝0.0014）。PCNA 陽性率はデキサメタゾン 5μg/g 投与群で 22.7%、コントロール群の 67%に比べ有意に低値であった（p＝0.009）。このことから、グルココルチコイドによる in vivo における骨肉腫細胞の増殖抑制効果が示され、かつグルココルチコイド受容体を介したアポトーシス誘導機序が推測された。これらの結果は、骨肉腫の新たな治療法の確立に貢献し、臨床応用の可能性を有していることから学位に値するものと認める。