



Title	ATTENUATION BY CYCLIC PHOSPHATIDIC ACID OF PERITONEAL METASTASIS OF AZOXYMETHANE-INDUCED INTESTINAL CANCERS IN WISTAR RATS
Author(s)	石原, 立
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45978">https://hdl.handle.net/11094/45978</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 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

氏名	石原立
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第18994号
学位授与年月日	平成16年8月26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	ATTENUATION BY CYCLIC PHOSPHATIDIC ACID OF PERITONEAL METASTASIS OF AZOXYMETHANE-INDUCED INTESTINAL CANCERS IN WISTAR RATS (腸癌腹膜播種性転移モデルを用いた cyclic Phosphatidic Acid (cPA) の転移抑制効果の検討)
論文審査委員	(主査) 教授 金倉 護  (副査) 教授 門田 守人 教授 高井 義美

### 論文内容の要旨

#### 〔 目 的 〕

癌による死亡の多くは転移によるものである。したがって、癌の浸潤・転移をコントロールできれば、癌の治療成績のより一層の向上が期待できる。浸潤・転移に関する研究はこれまでは、細胞レベルでの研究が中心で、たとえ動物を用いた研究でも癌細胞を移植しての転移実験が大部分を占めていた。我々はラット実験腸癌の発生過程に消化管ホルモンの一種であるボンベシンを長期投与すると、化学発癌では稀な腹膜播種性転移が高率に発生することを初めて報告した。本動物転移モデルは従来の癌細胞を移植した転移モデルとは全く異なり、発癌から転移へと進展していくヒトの癌に類似した非常にユニークなモデルといえる。我々はこれまでに *in vitro* の実験により、血清中に含まれる1-オレオイルリゾフォスファチジン酸 (LPA) が、低分子量 G 蛋白の1つである Rho 蛋白の活性化を介して癌の浸潤、転移を促進することを明らかにし、さらにその構造類似体である cPA が *in vitro* で浸潤を抑制することも明らかにしてきた。本研究では cPA の転移抑制効果を我々が開発した腹膜転移動物モデルを用いて検討した。

#### 〔 方 法 〕

6週齢 Wistar 系雄性ラット 115 匹を無作為に下記の6群に分け、すべてのラットに実験開始から10週間、週1回生理食塩水に溶解した発癌剤アゾキシメタン (7.4 mg/kg) を皮下投与した。それとともに各群のラットにはボンベシンと cPA を以下の通り投与した。第1群 (対照群 (n=15)) : オリーブ油単独、第2群 (n=20) : ボンベシン単独、第3群 (n=20) : ボンベシン+cPA (3.0 mg/kg)、第4群 (n=20) : ボンベシン+cPA (6.0 mg/kg)、第5群 (n=20) : cPA (3.0 mg/kg) 単独、第6群 (n=20) : cPA (6.0 mg/kg) 単独。ボンベシン (40 μg/kg) はオリーブ油に懸濁し実験開始から終了 (45週目) まで皮下に、また cPA はオリーブ油に懸濁し16週目から実験終了まで皮下に、いずれも週3回投与した。45週目にすべてのラットを屠殺し、腸腫瘍と腹膜転移の有無を検索した。なお癌組織中の Rho 蛋白量と活性を Rho pull-down assay を用いて測定した。

#### 〔 成 績 〕

- ① 腫瘍の発生頻度: 対照群である第1群では71%のラットに腸腫瘍を認めた。これに対してボンベシン単独投与の第2群の腫瘍発生率は90%で、第1群に比べやや高率であった。ボンベシンに cPA 併用投与の第3群、第4群の腫瘍発生率はいずれも95%で、第2群と同程度の高い腫瘍発生率であった。

- ② 腹膜播種性転移の頻度：対照群である第1群には腹膜播種性転移は全く認められなかったが、ボンベシン単独投与の第2群では担癌ラット17匹中15匹(88%)に転移を認めた。これに対して、ボンベシンにcPA併用投与の第3群、第4群ではそれぞれ5%(1/19)、17%(3/18)に転移を認めたに過ぎず、いずれも第2群に比べ有意に低率であった。cPA単独投与の第5群、第6群では転移の頻度は第1群同様低率であった。
- ③ 腫瘍の組織学的所見：小腸腫瘍と大腸腫瘍の比率、腺腫と癌の比率、癌占拠部位、組織型、深達度には、いずれも各群間で有意差を認めなかった。
- ④ 脈管侵襲の頻度：ボンベシン単独投与の第2群では対照群である第1群に比べ有意に高率にリンパ管侵襲像を認めた。一方、ボンベシンにcPA併用投与の第3群、第4群ではリンパ管侵襲の頻度は第2群に比べ共に有意に低率であった。
- ⑤ RhoA蛋白量：各群間でRhoA蛋白の総量に差はなかったが、ボンベシン単独投与の第2群では活性型RhoA蛋白量が対照群である第1群と比較し有意に高値であった。一方ボンベシンにcPA併用投与の第3群、第4群では第2群と比較し有意に低値であった。

[ 総 括 ]

ボンベシンはRhoA蛋白の活性化を介して腸癌のリンパ管侵襲と腹膜播種性転移を促進し、cPAはボンベシンのRhoA活性化を阻害することによって、ボンベシンによる腸癌のリンパ管への侵入、さらには転移促進作用を阻害すると考えられる。将来的にはcPAを転移抑制剤として実際の臨床の場で使用できる可能性がある。

#### 論文審査の結果の要旨

我々は*in vitro*の実験により、1-オレオイルリゾホスファチジン酸(LPA)が癌の浸潤、転移を促進することを初めて見だし、その構造類似体であるcyclic Phosphatidic Acid(cPA)に着目した。本研究ではcPAの転移への効果を、発癌剤(アゾキシメタン)により誘発した腸癌の発生過程にボンベシンを投与し腹膜播種性転移を起こす独自のラット腹膜転移動物モデルを用いて検討した。我々は腸癌組織中でRhoA活性を測定し、腹膜播種の形成過程において低分子量G蛋白の1つであるRhoA活性化が起こっている事を確認した。またcPAを投与する事により、腸癌の発生頻度、組織型、深達度に変化はみられなかったが、腸癌のリンパ管侵襲、腹膜播種性転移及び組織中でのRhoA活性は有意に抑制された。以上の成績より、cPAは腸癌の悪性度に影響を与える事なく、癌細胞のmigrationを抑制すると考えられた。本研究はcPAが新たな転移抑制物質として臨床応用できる可能性を示した研究で、学位授与に値すると考えられる。