

Title	Alendronate Inhibits Intraperitoneal Dissemination in In vivo Ovarian Cancer Model.
Author(s)	橋本, 香映
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/46354">https://hdl.handle.net/11094/46354</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">〈a href="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">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	橋本香映
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 20144 号
学位授与年月日	平成 18 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科臓器制御医学専攻
学位論文名	Alendronate Inhibits Intraperitoneal Dissemination in <i>In vivo</i> Ovarian Cancer Model. (アレンドロネートは卵巣癌腹膜播種モデルマウスの腹腔内播種を抑制した)
論文審査委員	(主査) 教授 村田 雄二  (副査) 教授 高井 義美 教授 野口眞三郎

### 論文内容の要旨

〔目的〕ビスホスホネートが *in vitro* において癌細胞のメバロン酸代謝経路の抑制を介して低分子量 G 蛋白 Rho の活性化を抑制し、癌細胞の運動能・浸潤能を抑制することが示唆されている。今回、アレンドロネートの *in vivo* での腫瘍抑制効果を卵巣癌腹膜播種モデルマウスを用いて検討した。

〔方法ならびに成績〕

#### 卵巣癌腹膜播種モデルマウスにおけるアレンドロネートの効果

6～8週令の Balb-c ノードマウスの腹腔内に卵巣癌細胞株 Caov-3  $10 \times 10^6$  個/匹移植し、ビスホスホネートの 1 つであるアレンドロネートの効果を検証した。臨床卵巣癌治療において問題となる 2 つのプロトコルモデルを作成した。1 つは再発予防モデルで、卵巣癌が治療によって肉眼上寛解状態となった後、再発予防目的でアレンドロネートを投与する場合を想定している。移植翌日よりアレンドロネートを投与する。一方、治療モデルとは移植後 10 日より投与開始するもので、移植後 10 日とは肉眼上マウスの腹腔内に播種が認められるようになる時期であり、卵巣癌で最も頻度の高い臨床進行期 3 期を想定している。アレンドロネートは 0.1 及び 1.0 mg/kg/day i.p. とした。いずれの群も移植後 7 週にて解剖し、腫瘍重量・腹水量を測定した。コントロール群 (生食投与) では腫瘍重量は  $2.18 \pm 0.60$  g であった。腫瘍重量は再発予防モデル 0.1 mg/kg/day 投与群で 37% の減少、1 mg/kg/day 投与群では 88% の減少であった ( $0.48 \pm 0.42$  g;  $p < 0.001$ )。治療モデルにおいても再発予防モデルと比べると抑制効果は劣っていたが、投与量 1 mg/kg/day では有為差をもって腫瘍重量は減少していた ( $1.12 \pm 0.86$  g;  $p < 0.01$ )。治療モデル、予防モデルいずれにおいてもアレンドロネート投与により腫瘍重量は濃度依存的に抑制された。次に、腹水についてコントロール群は  $7.20 \pm 3.34$  ml であったが、再発予防モデル 0.1 mg/kg/day 投与群で  $4.04 \pm 1.27$  ml ( $p < 0.01$ )、1 mg/kg/day 投与群で  $1.00 \pm 1.28$  ml ( $p < 0.001$ ) であった。治療モデルでは、0.1 mg/kg/day 投与群  $3.68 \pm 3.06$  ml ( $p < 0.01$ )、1 mg/kg/day 投与群  $3.72 \pm 3.88$  ml ( $p < 0.01$ ) であり、治療モデル、予防モデルいずれにおいてもアレンドロネート投与により腹水貯留は有為差をもって抑制された。

いずれのモデルにおいてもアレンドロネートによる腫瘍・腹水抑制効果を認めた。また治療モデルに比べて再発予

防モデルにおいてよりその効果が著明であった。

#### 腫瘍間質浸潤におけるアレンドロネートの効果

卵巣癌腹膜播種モデルマウスを一群につき3匹ランダムに選択し、腹腔内腫瘍をホルマリン固定しパラフィン包埋切片を10枚/匹作成。ヘマトキシリン・エオジン染色にて観察した。各切片における腫瘍間質浸潤の有無を光学顕微鏡下で観察した。

コントロール群ではほぼすべての切片において間質浸潤が認められたのに対し、有為差をもってアレンドロネート投与群で浸潤部位は減少していた。

#### 腹水中 MMP-2 の変化

卵巣癌腹膜播種モデルマウスの腹水を用いて MMP-2 activity assay system を行い腹水中の活性型 MMP-2 濃度を測定した。腹水中の活性型 MMP-2 濃度はコントロール群と比べアレンドロネート投与群において有為差をもって減少していた。

#### 血中 CA125 の変化

マウス血液中の CA125 濃度を測定した。非担癌マウスでは  $1.57 \pm 0.15$  U/ml であったのに対し、担癌コントロール群では  $897 \pm 923$  U/ml と著明に増加していた。これはアレンドロネート投与群 (1.0 mg/kg/day) では再発予防モデル群  $115 \pm 79.1$  U/ml、治療モデル群  $220 \pm 225$  u/ml ともに有為差をもって減少していた。

#### [総括]

アレンドロネート投与により卵巣癌腹膜播種が抑制された。

その作用機序のひとつには腫瘍細胞の浸潤能の抑制が関与していると考えられる。

今後ビスホスホネートによる癌の転移・間質浸潤抑制効果の解明は卵巣癌治療における旧来の抗癌剤治療以外の新しいアプローチとして期待しうる。

### 論文審査の結果の要旨

本研究はアミノ基をもつビスホスホネート製剤であるアレンドロネートが卵巣癌細胞株においてメバロン酸経路の抑制を介して低分子量 G 蛋白 Rho の活性化を低下させ、卵巣癌細胞の運動能・浸潤能を抑制するという知見 (*in vitro*) を卵巣癌腹膜播種モデルマウスにて *in vivo* で検討したものである。本研究では再発予防モデル、治療モデルの2つのモデルを用いて検討を行っている。その結果、アレンドロネートは濃度依存的に腫瘍重量および腹水量を減少させた。さらに腫瘍切片の観察にてアレンドロネート投与により腫瘍間質浸潤が抑制されることが示された。腫瘍の浸潤に重要な働きをもつ活性型 MMP-2 もアレンドロネート投与により減少していた。なお、マウスには低カルシウム血症など大きな副作用は認められなかった。

本研究によってアレンドロネートは *in vivo* においても癌細胞の浸潤能を抑制し、抗腫瘍効果を発揮していた。このことはビスホスホネート製剤のもつ抗腫瘍効果が今後の卵巣癌治療に新たな展開をもたらす可能性を示唆するものであり、学位の授与に値するものと考えられる。