



Title	The Novel I κ B Kinase β inhibitor, IMD-0560, has Potent Therapeutic Efficacy in Ovarian Cancer Xenograft Model Mice
Author(s)	澤田, 育子
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/55781
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	澤田 育子
論文題名 Title	The Novel I κ B Kinase β inhibitor, IMD-0560, has Potent Therapeutic Efficacy in Ovarian Cancer Xenograft Model Mice. (新規低分子IKK阻害薬の卵巢癌治療における可能性の検討)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
卵巢癌は約半数が腹膜播種を伴う進行癌で診断され、現行の標準治療である腫瘍減量手術と化学療法では高率に再発をきたし予後不良である。近年卵巢癌に対する初回・再発治療において抗 vascular endothelial growth factor (VEGF) モノクローナル抗体である bevacizumab による抗血管新生療法が登場したが、全生存期間の有意な延長効果は限定的であり、新たな治療法の確立が必要とされている。今回我々は、癌の進展や血管新生への関与が報告されており、卵巢癌の予後不良因子の一つである nuclear factor-kappa B (NF-κB) に着目し、卵巢癌における NF-κB signaling を標的とした新規治療の可能性について検討した。	
〔方法 (Methods) 〕	
まず9種類のヒト卵巢癌細胞株にて NF-κB 活性の有無を NF-κB のリン酸化で評価し、そのうちマウス腹腔内に移植した際に腫瘍形成能をもつ SKOV3ip1 および HeyA8 を以下の実験にて使用した。NF-κB 阻害薬の臨床応用を念頭において、既に他疾患における Phase I 試験にてその高い安全性が確認されている選択的 inhibitor kappa B kinase β (IKKβ) 阻害薬である新規低分子化合物 IMD-0560 を用いて実験を行った。<i>in vitro</i> における検討では IMD-0560 による NF-κB 活性阻害作用を western blotting(WB) 法と免疫蛍光染色で確認し、IKKβ 阻害が細胞増殖能、細胞周期に与える影響をそれぞれ cell proliferation assay、flow cytometry 法 (FACS) にて検討した。さらに、VEGF 発現および血管新生に与える影響を WB 法、VEGF-A プロモーターベクターを用いたルシフェラーゼレポーターアッセイおよび human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) を用いた Tube formation assay にて検討した。<i>in vivo</i> においては SKOV3ip1 (1$\times$10⁶ cells) を BALB/c nu/nu マウスに腹腔内移植し、卵巢癌腹膜播種モデルマウスを作成した。移植後7日目より IMD-0560 10 mg/kg および PBS を1日1回腹腔内投与し、生存期間を観察した。一方で腫瘍移植後35日目に安楽死させ、腹膜播種腫瘍重量および個数を計測、播種病変を比較検討した。また摘出腫瘍の免疫組織染色にて細胞増殖を Ki-67 で、血管新生を CD31 による血管数および VEGF 発現にて評価した。	
〔成績 (Results) 〕	
ヒト卵巢癌細胞株9株中8株に NF-κB 活性を認めた。WB 法にて、SKOV3ip1 および HeyA8 ともに通常の培養条件で NF-κB は恒常的にリン酸化しており、IMD-0560 投与によりリン酸化抑制を認めた。SKOV3ip1 を用いた免疫蛍光染色にて、通常の培養条件ではほとんどの細胞で NF-κB p65 は活性化し核内に移行していたが、IMD-0560 により約半数の細胞で細胞質内に留まり、IMD-0560 による NF-κB の活性化阻害作用が確認された。IMD-0560 により SKOV3ip1 と HeyA8 の細胞増殖は有意に抑制され、G0/G1 期の細胞が有意に増加することから、G0/G1 arrest が誘導されることが示された。さらに、IMD-0560 は、VEGF 発現の減少および VEGF-A の転写を抑制した。また Tube formation assay において SKOV3ip1 の細胞上清によって誘導される HUVECs の管腔形成促進作用を阻害した。卵巢癌モデルマウスにおいては、コントロール群に比して IMD-0560 投与群で、生存期間が平均51日から65日へと有意に延長された。また、播種病変重量・播種病変数ともに IMD-0560 投与群において有意に減少を認めた。摘出した播種病変の免疫染色では、IMD-0560 投与群で Ki-67 陽性細胞数は有意に減少し、VEGF の発現は減弱し、その結果マウスの腫瘍内血管 (CD31) は有意に減少していた。	
〔総括(Conclusion)〕	
IKKβ 阻害薬は、卵巢癌細胞株において恒常的に活性化している NF-κB 活性を抑制し、細胞周期停止による細胞増殖抑制および VEGF 発現を抑制した。<i>in vivo</i> においては、卵巢癌モデルマウスの生存を延長し、卵巢癌腹膜播種を有意に抑制した。また摘出腹膜播種腫瘍において、血管新生阻害と細胞増殖抑制が確認された。IKKβ 阻害剤治療は卵巢癌に対する新たな治療選択肢のひとつとなる可能性が示唆された。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 澤田 育子

論文審査担当者

名 氏 (職)

主 查 大阪大学教授

木村正

副 查 大阪大学教授

野々村 祝夫

副 查 大阪大学教授

壹 貳 參 肆 伍 陸 柒 捌 玖 拾

論文審査の結果の要旨

卵巣癌は婦人科悪性腫瘍の中で最も予後不良な疾患である。本研究において我々は、がんの進展や血管新生に深く関わりとされている NF- κ B signaling に着目し、卵巣癌における NF- κ B の活性化とその治療標的としての可能性を検討した。

まず、卵巣癌細胞株において NF- κ B は高頻度に活性化されていることを確認した。次に NF- κ B 阻害薬の臨床応用を念頭において、すでに他疾患の Phase 1 にて高い安全性が認められている選択的 IKK β 阻害薬 IMD-0560 が卵巣癌に与える影響を *in vitro*, *in vivo* で検討した。IMD-0560 は卵巣癌の細胞周期停止により細胞増殖能を有意に低下させ、VEGF-A 発現の低下を介して HUVECs の管腔形成能を阻害した。卵巣癌モデルマウスでは、IMD-0560 投与により腹膜播種腫瘍の有意な減少を認めた。以上の検討より、卵巣癌において NF- κ B signaling を標的とした抗血管新生療法は新たな治療法となりうると考えられる。

以上より、本論文は学位論文に値すると考える。