

Title	新規ビンカアルカロイドconophyllineの子宮体癌細胞に対する抗腫瘍効果に関する検討
Sub Title	
Author	入江, 琢也
Publisher	慶應医学会
Publication year	2005
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.82, No.4 (2005. 12) ,p.14-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20051202-0014">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20051202-0014</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

# 新規ビンカアルカロイドconophyllineの子宮体癌細胞に対する 抗腫瘍効果に関する検討

入江 琢也

## 内容の要旨

新規ビンカアルカロイドconophyllineは、キョウチクトウ科植物の葉からRas活性阻害剤として抽出、精製された。Conophyllineは*in vitro*において、K-ras-NRK細胞の細胞増殖を抑制しない濃度でマトリゲルへの浸潤細胞数を減少させることが明らかにされている。このことから、conophyllineは癌細胞の細胞増殖抑制を標的とした従来の殺細胞性抗癌剤とは作用機序が異なり、細胞毒性のより少ない抗腫瘍剤としての可能性が示唆された。そこで本研究では子宮体癌由来培養細胞株を用い、*in vitro*における浸潤能抑制効果と*in vivo*における抗腫瘍作用について検討し、conophyllineが新規の抗転移薬、あるいは抗腫瘍剤になり得るか否かについて考察した。

Conophyllineは子宮体癌細胞において、細胞増殖を抑制しない濃度でマトリゲルへの浸潤細胞数を減少させた。この機序を解析する目的で、細胞が浸潤・転移するために必要なステップである細胞接着能と細胞運動能に着目した実験を行い、以下の結果を得た。Conophyllineは

(1) 固相化したマトリゲルやtype-IVコラーゲンへの細胞接着数を減少させた。(2) wound assayにて細胞運動能を抑制した。(3) フローサイトメトリーを用いた実験においてE-cadherin、CD44の発現を減弱させた。さらに、*in vivo*における実験では、子宮体癌細胞を皮下移植したヌードマウスにおいて投与終了時までいずれのマウスにも衰弱死を認めず、コントロール群と比べ約50%の腫瘍増殖を抑制した。

Conophyllineがマトリゲルへの浸潤細胞数を減少させた機序として、接着や細胞運動に関与する分子に影響を与えている可能性が考えられた。すなわち、conophylline投与により、細胞が浸潤・転移するための最初のステップである基質への接着が抑制されてその足場を失い、細胞移動(運動)ができなかったことが要因と考えられた。*In vivo*における実験では、コントロール群と比べ約50%の腫瘍増殖を抑制したことから、conophyllineが抗腫瘍効果を有することが認められた。また、conophylline投与により、いずれのマウスにおいても衰弱死を認めなかったことから、宿主に対する細胞毒性は少ないことが推測された。

現在、conophyllineはTNF- $\alpha$ レセプターをdown regulationさせることで誘導されるNF- $\kappa$ Bの活性を抑制することや脾細胞の分化に重要と考えられる転写因子neurogenin3の誘導活性が見いだされており、標的分子は一般的な転写制御因子に関与している可能性が強いと考えられている。以上のことから、conophyllineは核酸や微小管に結合しない新規の抗転移薬、あるいは抗腫瘍薬に発展する可能性が示唆された。

## 論文審査の要旨

Conophylline (コノフィリン) は、アルカロイドに属する新規の天然有機化合物である。本研究では、conophyllineを用い、婦人科癌の中でも増加傾向にある子宮体癌について実験を行った。その結果、conophyllineは子宮体癌細胞の細胞増殖を抑制しない濃度において*in vitro* invasion assayでのマトリゲルへの浸潤細胞数を減少させた。その機序には、conophyllineが、細胞接着や細胞運動を制御する分子に影響を与えている可能性が示唆された。また、*in vivo*における実験では、conophylline投与により、背側皮下に移植した低分化型子宮体癌由来細胞の腫瘍の増殖を抑制する結果を得た。以上の結果より、conophyllineは、新規の抗転移薬あるいは抗腫瘍剤になり得る可能性が示された。

審査ではまず、*in vitro*における実験で、SNG-II細胞を用いた理由が問われた。これに対し、予備実験にて、5種の子宮体癌細胞株を用いた*in vitro* invasion assay (conophylline添加なし)を施行した結果、SNG-II細胞が最も浸潤細胞数が多く、薬剤による浸潤能抑制効果を検討する実験に、より適していると考えて用いたとの回答があった。次に*in vitro*で用いた細胞株が1つでは不十分ではないかとの指摘があった。これに対し、Ishikawa細胞(高分化型子宮体癌由来細胞株)を用いた実験で、細胞増殖に対する影響と*in vitro* invasion assayを行い、SNG-II細胞と同様の結果を得ているが今後、複数の細胞株を用いての実験も必要であると回答された。また、接着分子での検討でintegrin $\beta$ 1とCD44になぜ着目したのかとの質問に対し、子宮体癌においてintegrin $\beta$ 1とCD44は、文献的に転移・浸潤への関与の報告が多いため着目したと回答がなされた。さらに、*in vitro*と*in vivo*の実験で異なった細胞株を用いた理由が質問された。これに対し、HOOUA細胞はSNG-II細胞と比べ、皮下移植腫瘍の生存率と細胞増殖率が高いため*in vivo*で用いたが、*in vitro*の実験では取り扱いが難しく、データの変動が大きいため、*in vitro*ではSNG-II細胞を、*in vivo*ではHOOUA細胞を用いたとの回答がなされた。また、*in vivo*における実験では、皮下移植した腫瘍重量の変化だけではなく、conophylline投与群と、非投与群の腫瘍組織をさまざまな実験系で比較検討することにより、conophyllineの分子メカニズムがさらに明確になる可能性があるとの助言がなされた。

以上のように、本研究には今後検討されるべき課題を残しているものの、conophyllineがヒト子宮体癌細胞に対し、*in vitro*や*in vivo*における実験において、浸潤能抑制効果や、皮下移植腫瘍の細胞増殖を抑制することをはじめ明らかにし、子宮体癌の新たな治療法の可能性を示した点において、有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 産婦人科学 吉村 泰典  
病理学 岡田 保典 病理学 坂元 亨宇  
先端医科学 河上 裕  
学力確認担当者: 北島 政樹、岡田 保典  
審査委員長: 岡田 保典  
研究指導者: 野澤 志朗 (産婦人科学)

試問日: 平成17年 6月10日