

氏名	庭野元孝
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	医博第2039号
学位授与の日付	平成10年7月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	医学研究科分子医学系専攻
学位論文題目	The Inhibition of Tumor Growth and Microvascular Angiogenesis by the Potent Angiogenesis inhibitor, TNP-470 in Rats (担癌ラットを用いた血管新生阻害剤 TNP-470 の抗腫瘍効果及び微細血管新生阻害効果の検討) (主査)
論文調査委員	教授 千葉 勉 教授 山岡義生 教授 今村正之

論文内容の要旨

固形癌に対する治療戦略として抗血管新生療法が注目されており、血管新生阻害剤TNP-470は最も臨床応用に近い合成化合物である。腫瘍血管新生には血管内皮増生、遊走、細胞外マトリックス分解などが必要でさらに腫瘍間質内圧の影響も受けると考えられる。本化合物の作用機序は血管内皮増殖抑制作用とされているが、超微細形態的解析や腫瘍間質内圧に関する知見はない。本研究はこの観点よりTNPの作用機序を解析したものである。ラット乳腺由来Walker 256 carcinosarcomaを移植したWistarラットにTNP投与群では30mg/kgを腫瘍移植後1日目に1回、腫瘍遠方に皮下注し12日目に犠死させた。抗腫瘍効果、腫瘍壊死率測定については腫瘍重量、最大割面の壊死面積比率(%)を測定した。腫瘍間質内圧は対照群、TNP投与群を腫瘍重量2.5g以下、2.5-5g、5g以上の3群に分け(各群n=40)、腫瘍被膜下深度2-3mm(浅部)と8-10mm(深部)の2箇所wick-in-needle法で測定した。アクリル樹脂で脈管鑄型標本を作成し、走査電顕で形態、腫瘍血管数、血管径、sprout(新生血管)数を計測した。副作用の指標として体重測定した。腫瘍重量は対照群とTNP投与群では各々 5.64 ± 1.56 gと 2.94 ± 0.83 g($p < 0.05$)で、腫瘍重量は対照群では2.5g以下、TNP投与群では5g以上を示したものはなかった。壊死率は各々 $9.6 \pm 3.0\%$ と $22.6 \pm 5.9\%$ ($p < 0.05$)で有意差を認め、壊死部の分布は対照群は中心性、TNP投与群はびまん性に生じた。腫瘍間質内圧(mmHg)は対照群で腫瘍重量2.5-5gでは浅部と深部で各々 2.27 ± 0.43 と 4.61 ± 0.91 、5g以上で各々 3.78 ± 0.61 と 6.84 ± 1.26 、TNP投与群で2.5g以下では浅部と深部で各々 4.52 ± 0.80 と 8.26 ± 1.71 、2.5-5gで各々 5.14 ± 1.02 と 8.99 ± 1.66 であった。両群比較可能な腫瘍重量2.5-5gの同質内圧はTNP投与群では浅部、深部ともに対照群に比し有意に上昇した。この機序は明らかではないが間質内圧の上昇は血管の拡張や進展の阻害をもたらす可能性が考えられた。腫瘍血管数は対照群では浅部と深部で各々 12 ± 2 と 13 ± 3 、TNP投与群では各々 9 ± 2 と 10 ± 3 とTNP投与群で減少傾向を認めた。最大腫瘍血管径(μm)は対照群では浅部と深部で各々 28 ± 6 と 152 ± 28 、TNP投与群では各々 26 ± 5 と 72 ± 10 とTNP投与群の深部において有意に低値を示した。sprout数は対照群では浅部と深部で各々 30 ± 7 と 3 ± 2 、TNP投与群では各々 4 ± 2 と 3 ± 2 とTNP投与群で浅部において有意に減少した。走査電顕による深部の観察で対照群では血洞様の腫瘍血管を認めTNP投与群では腫瘍血管の狭窄を認めた。副作用としての実験後/前の体重は、対照群で $19.0 \pm 3.5\%$ の増加、TNP投与群で $6.5 \pm 1.2\%$ の減少を認めた。本研究においてTNPがsprout発生障害と腫瘍間質内圧上昇をもたらすことを明らかにした。またTNP投与群で腫瘍浅部のsprout数は明らかに減少したにもかかわらず腫瘍血管数には有意な差を認めなかった。これはsproutが必ずしも全て腫瘍血管にまで発育しないこと、対照群の腫瘍重量が全て2.5g以上であるためTNPの最大効果がみられた腫瘍重量2.5g以下のサンプルが検討に供されなかったことが腫瘍血管数に有意な差を生じなかった理由と推測された。腫瘍深部のsprout数が両群間で差を認めなかったのはTNPが主に増殖期の血管内皮細胞に作用するためと考えられた。以上のように本研究は血管新生阻害剤TNP-470の作用機序を新たな視点から検討し、その作用機序にsproutの発生阻

害、腫瘍間質内圧上昇が関与するという新しい知見を示したものであり、学位論文を授与するに値すると考えられる。

論文審査の結果の要旨

著者はラット皮下の移植腫瘍を用いて血管新生阻害剤TNP-470の抗腫瘍効果を超微細形態と腫瘍間質内圧の観点より解析した。TNP授与群（n=40）と対照群（n=40）で腫瘍重量、腫瘍壊死面積比率の測定と腫瘍被膜下浅部と深部の2箇所で行ったwick-in-needle法で腫瘍間質内圧測定を行った。アクリル樹脂で脈管鑄型標本を作成し、走査電顕で形態、腫瘍血管数、血管径、sprout（新生血管の発芽）数を計測した。TNP授与群では有意な腫瘍重量の減少と壊死率の増加という抗腫瘍効果を認めた。間質内圧はTNP投与群では腫瘍の浅部と深部ともに有意な上昇を認めた。鑄型標本では腫瘍血管数はTNP投与群で減少傾向を有し、最大腫瘍血管径はTNP投与群では深部において有意に低値を示し、sprout数は浅部においてTNP投与群で有意に減少した。

形態学的にはTNP投与群では非投与群に比べ腫瘍血管の拡張不良と狭窄が著明であった。この形態学的特徴はTNP授与群における腫瘍間質内圧の上昇に起因することが示唆された。

以上の研究は血管新生阻害剤TNP-470の抗腫瘍効果がsproutの発生阻害による新生血管形成抑制と間質内圧上昇であることを示し、本血管新生阻害剤の作用機序の解明に貢献するものである。

従って、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成10年3月23日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。