

主論文の要旨

**The Anticancer Effects of Novel α -Bisabolol
Derivatives Against Pancreatic Cancer**

〔 膵癌に対する新しい α -ビスボロール誘導体の抗腫瘍効果について 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻
病態外科学講座 腫瘍外科学分野

(指導：椰野 正人 教授)

村田 嘉彦

【背景】

膵癌は高悪性度で浸潤、転移傾向の強い癌である。その予後は化学療法や放射線治療の発達により改善してきているが、いまだ満足のものではない。治療成績の改善には膵癌に対する新たな治療法の開発が必要である。ビスボロールは、単環式テルペノイドの一種であり、神経膠芽腫や白血病や肝臓癌や乳癌など様々な悪性疾患に対する抗腫瘍効果が報告されている。われわれも膵癌に対するビスボロールの抗腫瘍効果を報告している。本研究では、ビスボロールと比較してより抗腫瘍効果の高いビスボロール誘導体を開発することを目的とした。

【方法】

名古屋大学大学院創薬研究科との共同研究において 44 種のビスボロール誘導体を合成した。膵癌細胞株 KLM1 での WST-1 を用いた増殖抑制能の検討により、44 種のビスボロール誘導体のうち最も高い抗腫瘍効果を有したビスボロール誘導体#5 を選定した(Fig.1)。ビスボロール誘導体#5 に関して、膵癌細胞株 KLM1、Panc1、KP4 を用いてそれぞれの検査でビスボロールと比較した。ビスボロールとビスボロール誘導体#5 を $62.5 \mu\text{M}$ と $125 \mu\text{M}$ 、それぞれの濃度で膵癌細胞株への投与後 48 時間、37 度、5%二酸化炭素濃度環境下で培養し増殖能を BrdU アッセイにて検討した。またビスボロールとビスボロール誘導体#5 を $62.5 \mu\text{M}$ と $125 \mu\text{M}$ で膵癌細胞株へ投与し、96 時間後の細胞死に関してトリパンプルー色素排出試験にて検討した。細胞形態への影響に関しては、 $62.5 \mu\text{M}$ のビスボロールとビスボロール誘導体#5 を投与 72 時間後に検討した。アポトーシス誘導能に関しては $62.5 \mu\text{M}$ のビスボロールとビスボロール誘導体#5 の膵癌細胞株への投与後 48 時間後に Muse Annexin V and Dead Cell Kit を用いて検討した。

担癌動物モデルを用いた実験としては、7 週齢雄 BALB/c ノードマウスの大腿に膵癌細胞株 KLM1 を皮下注射して作成した膵癌皮下発癌モデルに対してビスボロール、ビスボロール誘導体#5 を週 2 回合計 5 回経口投与し、それぞれの大腿の腫瘍の大きさを測定して抗腫瘍効果を検討した。皮下腫瘍での AKT 発現をウエスタンブロッティング法にて検討した。また 7 週齢雄 BALB/c ノードマウスの腹腔内に膵癌細胞株 KLM1 を注入して作成した膵癌腹膜播種モデルに対してビスボロール、ビスボロール誘導体#5 を週 2 回合計 3 回経口投与し、それぞれの腹腔内所見などから抗腫瘍効果について検討した。膵癌腹膜播種モデルの腹水中の腫瘍マーカーを測定比較した。腹腔内遊離癌細胞での AKT 発現をウエスタンブロッティング法にて検討した。

統計は実験値を平均±標準誤差で示し、実験値間の有意差を ANOVA と Bonferroni を用いて評価した。P<0.05 を有意差ありとし、解析には IBM 社の SPSS[®]を用いた。

【結果】

ビスボロール誘導体#5 はビスボロールと比較していくつかの膵癌細胞株でより低濃度で細胞増殖抑制効果を示した(Fig.2)。ビスボロール誘導体#5 はビスボロールと比

較して膵癌細胞株で同等もしくはそれ以上の細胞死を誘導した(Fig.3)。細胞形態の変化ではビスボロール投与群と比較してビスボロール誘導体#5 投与群の細胞で細胞膜の非対称性がなくなり接着性が低下した(Fig.4)。またビスボロール誘導体#5 は膵癌細胞株でアポトーシスを誘導したが、ビスボロールとは異なるパターンを示した(Fig.5)。膵癌皮下発癌モデルの検討ではビスボロール誘導体#5 の投与群が最も腫瘍の増殖抑制効果を示した(Fig.6)。また皮下腫瘍での AKT 発現もビスボロール誘導体#5 の投与群で減弱していた(Fig.7)。膵癌腹膜播種モデルの肉眼的所見ではビスボロール誘導体#5 の投与群が最も腹膜播種結節の量が少ない結果であった(Fig.8)。腹水内の CEA、CA19-9 の値はともにビスボロール投与群と比較してビスボロール誘導体#5 投与群で低い値であった(Fig.9)。腹腔内遊離癌細胞での AKT 発現もビスボロール誘導体#5 の投与群で減弱していた(Fig.10)。

【考察】

ビスボロール誘導体#5 は、膵癌細胞株および膵癌皮下発癌モデルと膵癌腹膜播種モデルの検討よりビスボロールより高い抗腫瘍効果を有していた。しかし膵癌皮下発癌モデルと膵癌腹膜播種モデルでのビスボロール誘導体#5 の抗腫瘍効果に違いが認められた。この理由の1つとして、皮下発癌モデルの腫瘍は腹膜播種モデルの結節より大きく、腫瘍の中心までビスボロール誘導体#5 が到達しにくいと考えられた。

また AKT の活性化と膵癌患者の予後との関連性が報告されており、AKT を標的とした分子治療はより効果の高い膵癌治療法になりうると考えられる。今回ビスボロール誘導体#5 はビスボロールより高い AKT 抑制効果を示しており、効果的な膵癌の進行の抑制が期待される。一方でわれわれはビスボロール誘導体#5 が代謝され、ビスボロールへ変換され、抗腫瘍効果が生じると考えていた。しかし、ビスボロール誘導体#5 とビスボロールの異なるアポトーシスパターンは、異なる作用機序の存在を示唆しており、さらなる研究が必要と考えられる。

【結語】

今回我々はビスボロールより高い抗腫瘍効果を示した新しいビスボロール誘導体#5 を合成した。今後臨床応用にむけたさらなる研究が必要と考える。