

論文の内容の要旨

題目：婦人科腫瘍、類腫瘍における食品由来生理活性物質による
腫瘍調節機構に関する研究

氏名：田口 歩

【序文】産婦人科領域で炎症・腫瘍の両側面を有する疾患・病態として、悪性腫瘍・癌性腹膜炎・子宮内膜症などが挙げられる。これらの治療方法としては、手術療法・化学療法・ホルモン療法などが代表的であるが、いずれも合併症や副作用などの侵襲性が問題となる。一方、食品由来の成分である ω 3 脂肪酸とレスベラトロール (resveratrol, RVT) は、抗炎症・抗腫瘍作用をもつことが近年注目されており、食品由来であることから既存の治療に比べ副作用も少ないことが期待される。本研究では、 ω 3 脂肪酸および RVT の、悪性腫瘍・癌性腹膜炎・子宮内膜症に対する効果を機序も含めて検討した。

【 ω 3 脂肪酸と子宮頸癌モデル】 ω 3 脂肪酸は ω 6 脂肪酸とともに、多価不飽和脂肪酸の一種であり、そのもの若しくはその代謝物がメディエーターとして生体の恒常性維持を担っている。 ω 3 脂肪酸は腫瘍細胞の増殖抑制やアポトーシスの誘導によって抗腫瘍効果を持つことが近年報告されつつある。

腫瘍内微小環境における炎症が悪性腫瘍の進展に寄与していることが、近年注目されつつある。癌細胞は、腫瘍内微小環境の種々の構成細胞と相互作用することでその性質を獲得・維持し、一方で癌細胞によって活性化された腫瘍内微小環境の構成細胞はそれぞれ、腫瘍関連マクロファージ (tumor-associated macrophage, TAM)、癌関連線維芽細胞

(cancer-associated fibroblast, CAF)、癌関連脂肪細胞 (cancer-associated adipocyte, CAA) 等となって、サイトカインや MMP などの産生を介して癌進展に寄与する、という相関図が想定されている。

本研究では、特に ω 3 脂肪酸の腫瘍内微小環境への働きに注目して種々の検討を行った。まず、 ω 6 脂肪酸を ω 3 脂肪酸に変換する酵素 (fat-1) を遺伝子導入した fat-1 トランスジェニックマウス (fat-1 マウス) を基に、マウス子宮頸癌細胞株である TC-1 皮下腫瘍モデルを作成した。野生型マウスとの対比により、fat-1 マウスでは腫瘍形成が抑制され、腫瘍内血管新生も抑制されていることが分かった。腫瘍組織の cDNA マイクロアレイによる遺伝子発現解析を行ったところ、fat-1 マウス由来の腫瘍では野生型に比べて MMP-9 の発現が抑制されていることが分かった。さらに、腫瘍組織標本を MMP-9 で免疫染色したところ、MMP-9 は血管内皮細胞や線維芽細胞などの腫瘍内間質細胞から強く発現しており、その発現は fat-1 マウス由来の腫瘍で抑制されていることが明らかとなった。このことから、 ω 3 脂肪酸は既報で述べられているような腫瘍細胞そのものへの作用 (腫瘍細胞の増殖抑制・アポトーシス誘導) のみならず、腫瘍内微小環境への作用 (MMP-9 の発現抑制) も介して抗腫瘍的效果を示していることが示唆された (図 1)。

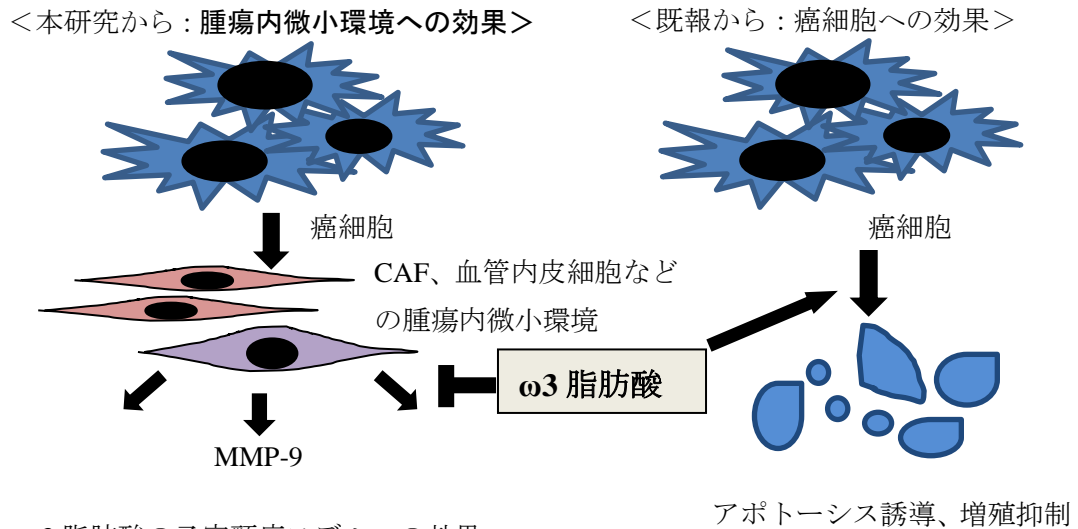


図1 ω3脂肪酸の子宮頸癌モデルへの効果

ω3脂肪酸は癌細胞の増殖抑制・アポトーシス誘導効果を有するとともに、CAFや血管内皮細胞などの腫瘍内微小環境の活性化を抑制することで子宮頸癌モデルに効果を持つ可能性がある。CAF: cancer-associated fibroblast

【RVTと癌性腹膜炎】RVTは、植物がカビや細菌から身を守るために生成するフィトキシアレンと呼ばれる植物性抗菌物質であり、ブドウの皮に含まれるポリフェノールの一種である。RVTは、適度な赤ワインの摂取は心血管症や脳卒中などのリスクを減らすという、いわゆる“French Paradox”に関与することで注目され、近年では抗酸化作用の他にも抗炎症作用や抗腫瘍作用を持つことが明らかとなり、注目度が増してきている。

代表的な婦人科癌の1つである卵巣癌は、腹膜播種進展することが特徴である。腹膜播種により腫瘍性・炎症性の機序で透過性の亢進した微小血管から多量の浸出液が腹腔内に漏出し、またリンパの閉塞によって吸収も妨げられた結果、腹水が貯留する。さらに腹水中には様々なサイトカインやケモカインが含まれ、腫瘍にとって好都合な腫瘍内微小環境を構成することで、腫瘍形成をさらに促進させている。癌性腹膜炎を伴う進行卵巣癌では、IL-6やTNF-αなどの炎症性サイトカインの産生により、しばしば患者は悪液質を呈し quality of life が大きく損なわれる。その為このような病態に対しては、積極的な抗癌治療と共に、IL-6やTNF-αで誘発された炎症のコントロールも重要な治療戦略の1つになると考えられる。

本研究では、RVTの癌性腹膜炎に対する効果を、マウスモデルを用いて検討した。同系マウス由来の卵巣癌細胞であるID8細胞にc-mycを導入したID8-myc細胞をマウス腹腔内に接種し、RVT投与群とコントロール群で腹膜播種形成・腹水産生量を比較した。その結果、RVT投与群ではコントロール群に比べ、播種形成は抑制される傾向にあり、腹水産生は有意に抑制されていた。続いて、RVTが癌細胞に与える影響を *in vitro* で検討するため、ID8-myc細胞をRVT存在下で培養した。その結果、ID8-myc生細胞数はRVT濃度依存的に

減少し、また ID8-myc 細胞のアポトーシスも RVT 濃度依存的に誘導されることが示された。さらに腹腔内の炎症を評価するため、腹水中の炎症性サイトカインを ELISA 法で検討したところ、RVT 投与群では IL-6 濃度が有意に低いことが明らかとなった。RVT はこれまでに種々の間質細胞における炎症抑制効果が報告されており、腹腔内の IL-6 産生細胞として特に腹腔内マクロファージに注目し *in vitro* 実験系で検討を行った。ID8-myc 上清との共培養により、腹腔内マクロファージからの IL-6 産生が誘導され、その産生は RVT によって濃度依存的に抑制された。この結果から、RVT は癌性腹膜炎に対し、癌細胞そのものをアポトーシス誘導して抗腫瘍作用を示すのみならず、マクロファージをはじめとした間質細胞の IL-6 産生を抑制することで抗炎症作用も示す可能性があることが示唆された（図 2）。

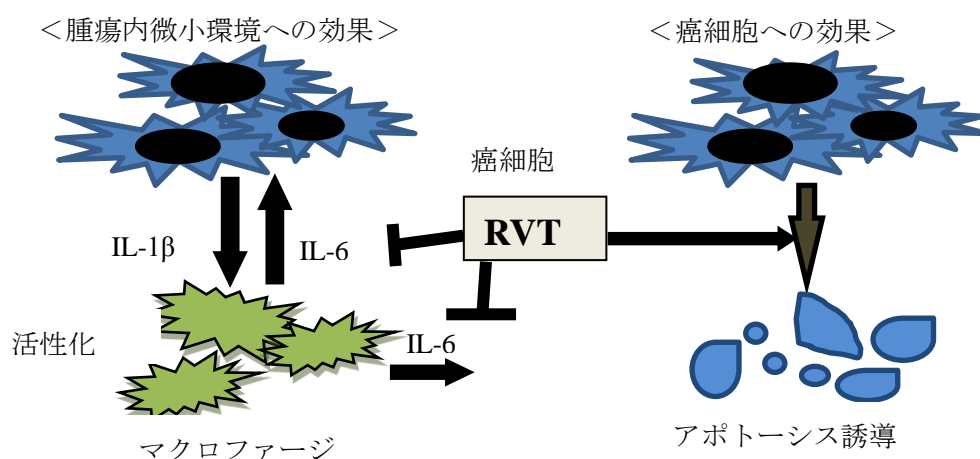


図 2 RVT の癌性腹膜炎への効果

RVT は癌性腹膜炎に対して、腫瘍細胞そのものへの増殖抑制・アポトーシス誘導効果を示す（抗腫瘍作用）のみならず、腫瘍内微小環境からの IL-6 の産生を抑制すること（抗炎症作用）で、有効な治療となる可能性がある。RVT: resveratrol

【RVT と子宮内膜症】 子宮内膜症は子宮内膜上皮が子宮内膜間質とともに子宮外に生着する疾患である。子宮内膜症は良性疾患でありながら、腹腔内で炎症を繰り返し、細胞外マトリックスを分解する、子宮外組織に生着・浸潤する、といった炎症性・腫瘍性疾患の側面も有している。子宮内膜症に対する現在の標準治療は、外科的治療もしくは、排卵抑制やホルモン抑制に基づいた low dose estrogen progestin やディナゲストなどの非外科的治療である。これらは少なからず外観へのダメージや副作用を伴うものであり、生殖年齢の女性に生じるという疾患の性格上、より低侵襲で生殖能力に影響を与えない新規治療戦略が望まれてきた。本研究では、子宮内膜症が炎症性疾患かつアポトーシス耐性の腫瘍性疾患であることに注目し、食品由来成分である RVT の、子宮内膜症に対する効果を、培養子宮内膜症間質細胞（endometriotic stromal cell, ESC）を用いて検討した。

RVT は間質細胞や免疫担当細胞など様々な細胞で炎症抑制効果が報告されている。一方、

ESCは腹腔内の免疫担当細胞（マクロファージなど）からの炎症性サイトカイン（TNF- α など）により活性化され、種々のサイトカイン（IL-8など）を放出することが知られている。そこで、RVTがTNF- α により活性化されるESCの炎症性反応に対し抗炎症効果を持つかを検討した。その結果RVTは、TNF- α で誘導されるESCからのIL-8発現をmRNAレベル・蛋白レベルともに濃度依存的に抑制することが示された。

次にRVTによるアポトーシス誘導がESCにおいて起こるかを検討したが、RVTは単独ではESCのアポトーシスを誘導しないことがわかった。ESCはアポトーシス刺激に対してsurvivin発現が維持されることでアポトーシス耐性であることが知られている。一方、RVTは種々の細胞でsurvivin発現を低下させることが報告されている。そこで、RVTがESCにおけるsurvivin mRNAの発現に与える影響を調べたところ、RVTはESCのsurvivin mRNA発現を有意に抑制していた。さらにRVTで前処置をしたESCは、TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)によりアポトーシスを起こした。この結果から、RVTは子宮内膜症に対して、抗炎症・抗腫瘍の両側面から病勢抑制効果を持つ可能性が示唆された（図3）。

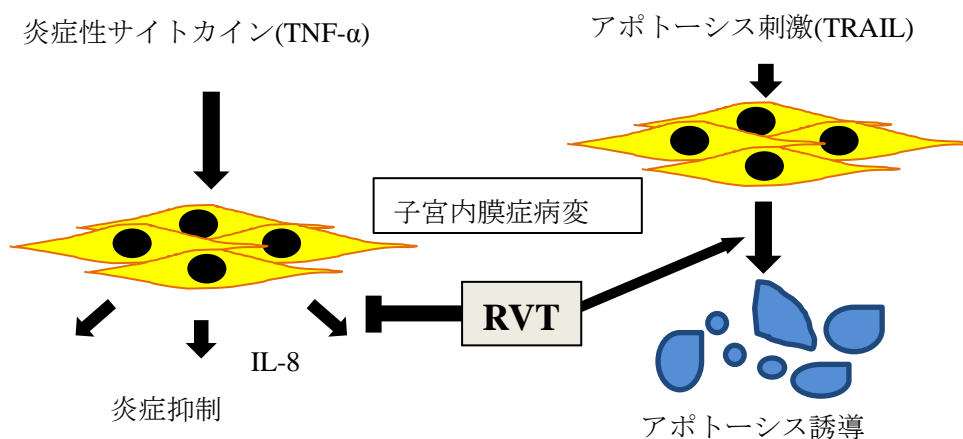


図3 RVTの子宮内膜症への効果

RVTはTNF- α によるESCからの炎症性サイトカインの産生を抑制し、またESCのTRAIL誘導性アポトーシス感受性を高めることより、抗炎症・抗腫瘍の両側面から子宮内膜症抑制効果を持つ可能性がある。TRAIL: TNF-related apoptosis-inducing ligand, RVT: resveratrol

【結語】 本研究によって、 ω 3脂肪酸やRVTは抗炎症・抗腫瘍の両側面から、悪性腫瘍・癌性腹膜炎・子宮内膜症に対して効果的である可能性が示唆された。これらの物質は、食品由来であることからヒトでの食経験があり、安全性の点からは実現性が高い。今後の補助療法や代替療法などとして臨床応用が期待される。