

審査の結果の要旨

氏名 朝蔭 正宏

本研究は癌治療方のなかで血管新生阻害という治療法に注目して、新たな血管新生阻害薬を解明するための *in vitro* の系を確立し、既に他の目的で臨床応用されている薬剤や新たな抗血管新生作用を有する物質を検討、評価することを試みたものであり、下記の結果を得ている。

1) ヒト臍帯静脈内皮細胞に及ぼすプラバスタチンの影響

HMG-CoA 還元酵素阻害薬であるプラバスタチンは、濃度依存的にヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVECs) の増殖を抑制した。その効果がコレステロール合成阻害作用によることを確認するために、メバロン酸の下流生成物であるファルネシルピロフォスファターゼとゲラニルゲラニルピロフォスファターゼをプラバスタチンと同時に添加すると、後者は明らかにプラバスタチンの作用が拮抗された。増殖抑制のメカニズムを調べたところ、それはアポトーシス誘導によるものではなく、細胞周期の G1 期から S 期への progression を阻害であることが確認された。細胞周期関連蛋白の発現を検討すると、Rb 蛋白の発現が低下し、特にリン酸化 Rb 蛋白の発現が低下していた。また、CDK2, cyclin D, cyclin E 発現も減少し、G1 arrest を支持する結果であった。次に、HUVECs と細胞外基質の相互作用に注目し、基底膜及び間質を構成する主な細胞外基質であるコラーゲン、フィブロネクチン及びラミニンに対する接着能を検討した。プラ

バスタチンは、濃度依存的に HUVECs のコラーゲン及びラミニンに対する接着性を低下させた。ゼラチンザイモグラフィによるマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)の発現は変化しなかったが、マトリゲル上での管腔形成能はプラバスタチンの濃度依存性に抑制された。

2) ヒト臍帯静脈内皮細胞におよぼす植物抽出物スルフォラファンの影響

次に、新生血管に及ぼすブロッコリー抽出物であるスルフォラファンの影響について検討を行った。スルフォラファンの濃度依存的に HUVECs の増殖抑制が認められ、アポトーシス誘導によるものであることが確認された。Caspase 阻害剤の添加により HUVECs 増殖抑制作用は消失し、casapase-9inhibitor の方が casapase-8 inhibitor より強い効果を示した。ミトコンドリア経路のアポトーシス関連蛋白質発現をみるとアポトーシス促進因子 Bax の発現は増加し、逆にアポトーシス抑制因子 Bcl-2 の発現は減少した。また、スルフォラファンの濃度依存性に HUVECs の管腔形成が抑制されたが、MMP の産生は変化しなかった。

以上、本論文は既に広く臨床で用いられている薬品や、植物抽出物が in vitro において抗新生血管作用をもつことを明らかにした。本研究は癌の抗新生血管療法に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値すると考えられる。