

相良祐次 論文内容の要旨

主 論 文

Green tea polyphenol suppresses tumor invasion and angiogenesis in N-butyl-(4-hydroxybutyl) nitrosamine-induced bladder cancer

緑茶ポリフェノールは BBN 膀胱化学発癌モデルにおいて腫瘍の浸潤および血管新生を抑制する

相良 祐次、宮田 康好、野俣 浩一郎、林 徳真吉、金武 洋

Cancer Epidemiology : 34, 350-354, 2010

長崎大学大学院医歯薬総合研究科医療科学専攻
(主任指導教員： 酒井英樹 教授)

【緒 言】

膀胱癌の約4分の3は、癌細胞が上皮～粘膜固有層にとどまる表在性癌として診断される。その場合には、経尿道的腫瘍切除術および、BCG (Bacillus Calmette-Guerin) や抗癌剤による膀胱内注入療法で、比較的良好な予後が得られる。しかし、しばしば尿路上皮への再発を認め、一部は筋層浸潤から遠隔転移をきたすため、表在性膀胱癌において進行や浸潤を予防することが治療戦略上重要となる。癌の進展抑制に関して様々な研究が行われているが、以前より緑茶の一成分であるポリフェノール (green tea polyphenol, GTP) が、膀胱癌を含めた様々な癌種において抗腫瘍効果を示すことが、細胞や動物を用いた実験で報告されてきた。しかし、GTP の抗腫瘍作用の機序については不明な点も多い。また、疫学的調査では、緑茶の経口摂取による膀胱癌の抑制効果については意見が分かれている。今回我々は、膀胱癌の発癌や腫瘍の増大および、浸潤に対する GTP の抑制効果について化学発癌モデルを用いて検討した。さらに、膀胱癌の進展に重要な役割を果たす血管新生について、GTP 摂取が与える影響についても合わせて検討した。

【対象と方法】

マウスに BBN (N-butyl-(4-hydroxybutyl) nitrosamine) を経口摂取させると膀胱癌が発生し、その腫瘍は経時的に浸潤傾向を示してくる。このモデルは薬剤の抗腫瘍効果を検討する研究において多用されており、我々も、8週齢の C3H/He 雌マウスに、

①水道水、②0.5%GTP 溶液、③0.05%BBN 溶液、④0.05%BBN+0.5%GTP 溶液を経口投与した。経口投与開始から 14 週および 24 週後に膀胱を摘出しホルマリンで固定した。癌の発生はヘマトキシリン・エオジン染色標本で確認し、血管新生は抗 CD34 抗体および抗 vWF 抗体を用いた免疫組織化学的染色による腫瘍内 microvessel density (MVD)として評価した。

【結 果】

1. 発癌および浸潤抑制効果

試験薬投与開始から 14 週後の膀胱では、BBN 単独群の 35.7% (5/14) に癌細胞を認めた。一方、BBN+GTP 群では 14 匹中 3 匹 (21.4%) に癌を認め、その発生率は低下していたが、統計学的な有意差はなかった ($p=0.678$)。次に、24 週後の膀胱では BBN 単独群で 82.6%、BBN+GTP 群で 61.9%と 14 週後と同様にその発生率に統計学的有意差は認めなかった ($p=0.179$)。しかし、発生した膀胱癌の内、浸潤癌の割合はそれぞれ 65.2%と 23.8%であり、有意に ($p=0.030$) GTP+BBN 群でその割合が低かった。なお、水道水群および GTP 単独群ではいずれの時期でも癌を認めず、14 週後の評価では、BBN 群の 1 匹で浸潤癌を認めたが、BBN+GTP 群では認めなかった。

2. 腫瘍体積と MVD に関する GTP の影響

BBN 投与後 24 週後の標本で膀胱癌体積を比較すると、BBN 単独群より BBN+GTP 群で有意に低値 ($p=0.022$) であった。また、抗 CD34 抗体を用いた検討で、腫瘍内 MVD は BBN 単独群に比べ BBN+GTP 群において有意に低値 ($p=0.033$) を示し、さらに、腫瘍内 MVD は腫瘍体積と有意に相関していた($r=0.493$, $p<0.001$)。また、抗 vWF 抗体を用いた検討でも同様の結果が得られた。

【考 察】

今回の膀胱癌発癌モデルマウスを用いた検討では、GTP の経口投与は膀胱癌の発生を抑制しなかった。過去の動物を用いた実験において、緑茶の経口摂取が膀胱癌の発癌を抑制したという報告があるが、これらはいずれもラットを用いたものであり、動物種の違いがこの差異の原因だと考えられた。一方、緑茶と膀胱癌の発癌については、緑茶の摂取量の多いアジアを中心にいくつかの疫学的調査が行われてきたが、両者の間にあきらかな関連を認めた報告はない。我々の今回の結果は、これらの結果を支持するもので、GTP の持つ膀胱癌発癌抑制効果は限定的なものと推測された。

一方、GTP の経口投与と膀胱癌の増大や進展との関連を検討したところ、GTP を投与したモデルマウスの膀胱癌組織では、水道水を与えたマウスの膀胱癌組織に比べ有意に血管新生が抑制されていた。我々の知る限りでは、GTP の摂取と膀胱癌組織における血管新生の関連についての報告はないが、*in vitro* 研究において GTP が血管内皮細胞の増殖や遊走、管腔形成に抑制的に関与することが報告されており、膀胱癌においては同様の機序が作用した可能性が考えられた。一方で、本動物モデルにおける膀胱癌の体積と MVD は有意に相関することがわかった。以上の結果より、膀胱癌発癌モデルマウスにおいては、GTP の経口摂取が膀胱癌組織における血管新生を抑制し、その結果として、膀胱癌の増大や浸潤を抑制する可能性が示唆された。ヒトが GTP を経口摂取した場合の膀胱癌に対する抗腫瘍効果については不明であるが、今回の結果から、血管新生を抑制することで、発生した癌細胞の進展や増大の阻害作用がある可能性が推測された。