学 位 論 文 の 要 旨

所　　属	三重大学大学院医学系研究科 生命医科学専攻 病態解明医学講座	氏　　名	濱　口　貴　彦

主論文の題名

TNF inhibitor suppresses bone metastasis in a breast cancer cell line

主論文の要旨

【目的】

Tumor necrosis factor (TNF) αは近年、炎症性サイトカインの一つと認識されており、腫瘍の増殖、転移との関連が報告されている。乳癌においてもTNF-αの高い症例では予後が悪いことが報告されている。そこで本研究では、TNF-αの阻害薬である Infliximab を用い、乳癌細胞株 MDA-MB-231 の増殖、浸潤、転移に及ぼす影響を検討した。

【方法】

乳癌細胞株 MDA-MB-231 (以下 MDA-231) に対する infliximab の作用を確認するため TNF-αシグナルの検討として NFκB およびリン酸化 JNK をウェスタンブロット法にて測定した。また骨転移に関与する因子として骨へのホーミングに関与するケモカインレセプターCXCR4 および乳癌細胞株 MDA-MB-231 の骨転移の抑制作用が報告されている decorin の測定をウェスタンブロット法にて行った。

増殖能に関し、infliximab 投与後 24 時間、48 時間、72 時間、96 時間後の細胞数をカウントし評価を行った。移動能、浸潤能に関しては Boyden chamber を用い評価した。移動能の評価は Matrigel coating のない膜を用い、移動能および浸潤能の評価は Martigel　coating された膜を用い検討を行った。24 時間経過後に上室に残る細胞を除去し、膜を超えた細胞数のカウントを行った。

骨転移の評価は乳癌細胞を左心室内に注射したマウス骨転移モデルを用い検討を行った。Infliximab は癌細胞投与 2 日後より、10mg/kg を週 1 回毎に投与した。この骨転移モデルでは大腿骨遠位および脛骨近位に骨転移をきたしやすいため、下肢骨を用いて評価した。評価は癌細胞投与 4 週後の時点で下肢レントゲンおよび下肢骨病理組織を作成し評価した。

【結果】

MDA-231細胞はinfliximabによりNFκBおよびリン酸化JNKが濃度依存的に抑制され、TNF-αシグナル伝達が抑制されていることを確認した。転移促進作用があるケモカインレセプターCXCR4はinfliximabにより時間依存的に減少することが確認され、転移抑制作用が報告されているdecorinはinfliximabにより濃度依存的に増加することを確認した。

（注）２，０００字以内にまとめて記入すること。

Infliximabによる細胞増殖抑制効果は確認されなかった。しかしながら、細胞の移動能および浸潤能はinfliximabの投与によりcontrolに対し有意に抑制された。

骨転移をレントゲンの骨溶解をもって評価した。Infliximabを投与していないマウスでは1匹あたり平均9個の転移巣を認めたが、infliximabを投与したマウスでは1匹あたりの転移巣は4個であり、有意に抑制されていた。また転移巣の面積もinfliximabを投与していないマウスでは4.48±1.39mm^2であったのに対し投与したマウスでは2.89±1.19mm^2であった。

大腿骨、下腿骨の正中矢状断面の病理組織にて骨転移の評価をおこなった。骨に対する転移はinfliximabを投与していないマウスでは47.5±6.9%であったのに対しinfliximabを投与したマウスでは19.4±8.1%であった($p<0.05$)。また、骨に対する転移面積は投与していないマウスで34.6±6.9%であったのに対し、投与したマウスでは13.3±5.4%であった ($p<0.05$)。Infliximabによって有意に転移率および転移面積の抑制を認めた。

【考察】

乳癌は世界で毎年約120万人が罹患しており、その主な転移臓器は骨である。骨転移による疼痛、病的骨折により患者のQOLが低下することが問題となっている。

炎症性サイトカインであるTNF-αは局所に高濃度で作用させれば抗腫瘍作用が認められているが、内因性のTNF-αは腫瘍増殖、浸潤を促進する。抗ヒトTNF-α抗体であるinfliximabは強い抗TNF-α作用があることが知られている。今回、infliximabを用いることで骨転移の発生およびその拡大を抑制することができた。またその作用機序としてinfliximabはケモカインレセプターであるCXCR4の発現を抑制し、腫瘍細胞増殖抑制作用と転移抑制作用があるdecorinの発現増加が関与していることが示された。

【結語】

Infliximabにより乳癌細細胞株MDA-MB-231の骨転移が抑制されることが明らかとなった。今後抗TNF-α療法が乳癌の治療戦略の1つとなる可能性が示唆された。