

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
田中義久	主査教授 大道 正英 副査教授 瀧内 比呂也 副査教授 芝山 雄老 副査教授 岡田 仁克
主論文題名  Sunitinib Suppresses Tumor Growth and Metastases in a Highly Metastatic Mouse Mammary Cancer Model  (スニチニブは高転移性マウス乳癌モデルにおいて腫瘍増殖と転移を抑制する)	
学位論文内容の要旨	
《目的》  現在、癌に対して様々な分子標的治療薬が用いられている中、スニチニブは血管新生や細胞増殖に関わる vascular endothelial growth factor receptor (VEGFR) や platelet-derived growth factor (PDGFR) など複数のチロシンキナーゼ受容体をターゲットとするマルチチロシンキナーゼ阻害剤である。スニチニブは転移性腎癌もしくは消化管間質腫瘍での有効性が示され、その他の臓器癌においても期待されている。そこで、リンパ節と肺に高率に転移を示すマウス乳癌モデルを用いて、スニチニブの抗腫瘍効果そして転移抑制作用の有無について詳細に解析した。  《方法》  実験 1: マウスの右鼠径部皮下に乳癌細胞株である BJMC3879 を移植し、腫瘍径が 0.3 cm になったところで 0, 10 および 40 mg/kg/day の濃度のスニチニブをミニ浸透圧ポンプにて持続的投与を行った。毎週 1 回、体重および腫瘍体積を測定し、	

実験開始から 7 週経過後にマウスを屠殺・剖検した。摘出された移植乳癌組織、リンパ節、肺および転移が認められた臓器を病理組織学的に検索するとともに、腫瘍組織での DNA 合成、アポトーシス、血管新生およびリンパ管新生を免疫組織学的手法により解析を行った。

実験 2: 同様に乳癌細胞株をマウスに移植後、腫瘍径が 0.5 cm になったところで 0 および 40 mg/kg/day の濃度のスニチニブをミニ浸透圧ポンプにて持続的投与し、1 週経過後にマウスを屠殺・剖検し、摘出された移植乳癌組織のチロシンリン酸化および VEGFR-2 のチロシンリン酸化抑制の有無を免疫組織学的手法により解析を行った。

#### 《結 果》

スニチニブ投与群での腫瘍体積の推移は、10 および 40 mg/kg/day の両群共に有意な増殖抑制が観察され、体重の減少は 10 %未満に留まっていた。また、腫瘍増殖の抑制だけではなく、スニチニブ投与群では移植乳癌組織において広範な細胞死領域が観察された。乳癌組織での DNA 合成能を測定したところ、スニチニブ投与群で有意な低下が観察された。またアポトーシス誘導能を TUNEL 染色によって測定したところ、腫瘍細胞のアポトーシスは、むしろ投与群で低下しており、スニチニブ投与でもたらせる細胞死はネクローシスが主体であると考えられた。リンパ節への転移は、投与群において、発生率の低下傾向が見られたものの、マウス 1 匹当たりの転移個数では有意差は認められず、腫瘍内のリンパ管浸潤の数にも対照群との間に差異は認めなかった。しかし、肺およびその他の臓器への転移個数では、10 および 40 mg/kg/day 群ともに有意な低下を示した。腫瘍内血管密度は投与群において有意な低下が見られた。また、スニチニブ投与群において腫瘍内のチロシンリン酸化を抑制していることが免疫組織学的に示され、同様に VEGFR-2 のチロシンリン酸化においても抑制していた。

## 《考 察》

スニチニブによるチロシンキナーゼ型受容体のリン酸化の阻害は、乳癌組織の増殖を強く抑制したものである。また同時に血管新生を阻害することで細胞増殖を抑制し、かつ抗転移作用も発揮した。スニチニブは *in vivo* においてリンパ管新生の抑制には至らなかったが、リンパ節転移の発生率に抑制傾向を認めたことから、転移先臓器への生着を抑制しているのかも知れない。乳癌組織でのスニチニブの作用は、細胞増殖を抑制はしていたものの *in vitro* で観察される効果と違ってアポトーシスの誘導には至らなかった。乳癌組織で観察された広範な細胞死は、アポトーシスではなくネクローシス主体であると考えられた。スニチニブは癌細胞の足場となる腫瘍環境の構築を阻害することで癌細胞に対して二次的に壊死を引き起こしているものと思われる。この様に、スニチニブは強い抗腫瘍効果、そして抗転移作用を示すため転移性乳癌に対して非常に有用な分子標的薬として期待される。

## 審査結果の要旨および担当者

報告番号	甲第号	氏名	田中義久
論文審査担当者		主査教授 大道 正英	
		副査教授 瀧内 比呂也	
		副査教授 芝山 雄老	
		副査教授 岡田 仁克	
主論文題名			
Sunitinib Suppresses Tumor Growth and Metastases in a Highly Metastatic Mouse Mammary Cancer Model			
(スニチニブは高転移性マウス乳癌モデルにおいて腫瘍増殖と転移を抑制する)			
論文審査結果の要旨			
<p>本研究は、スニチニブの高転移性マウス乳癌モデルに対する抗腫瘍効果や転移の抑制効果を詳細に検討したものである。その結果、スニチニブは乳癌組織の腫瘍増殖を有意に抑制しており、DNA合成能は低下していた。また、スニチニブによる広範な細胞死領域が観察されたためTUNEL染色を施行したところ、予想に反してアポトーシスはむしろ投与群で低下していた。スニチニブによってもたらされる乳癌組織の細胞死は、おそらく腫瘍環境の崩壊による二次的なネクローシスであると考えられた。肺およびその他の臓器への転移は投与群で有意な低下を示したが、リンパ節への転移は抑制傾向に留まっていた。腫瘍内の血管密度は投与群で有意に低下していたものの、リンパ管新生の抑制は認められなかった。<i>In vitro</i>での薬剤の効果は必ずしも<i>in vivo</i>に反映されるわけではなく、<i>in vivo</i>での薬剤の動態の複雑さが伺える。スニチニブは腫瘍内のチロシンリン酸化を抑制しており、同様にVEGFR-2のチロシンリン酸化においても抑制していた。チロシンリン酸化の阻害が乳癌組織の増殖を強く抑制し、また同時に血管新生を阻害することで細胞増殖を抑制し、か</p>			

つ抗転移作用も発揮した。

以上の結果により、スニチニブが転移性乳癌に対して有用な分子標的薬であることを示しており臨床的意義は極めて高い。また、分子病理学的な基礎的知見を明らかにすることは、今後分子標的薬が抱える問題点を解決するにあたって非常に有用な知見となる。

以上により、本論文は本学大学院学則第11条に定めるところの博士（医学）の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

Anticancer Research 31(4): 1225-1234, 2011