



Title	Suppression of metastases of small cell lung cancer cells in mice by a peptidic CXCR4 inhibitor TF14016
Author(s)	Otani, Yasushi
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/26307
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

〔論文題名: Thesis Title〕

Suppression of metastases of small cell lung cancer cells in mice by a peptidic CXCR4 inhibitor TF14016.

(CXCR4阻害薬TF14016は、in vivoにおいて小細胞肺癌の転移を抑制する。)

専攻名 : 内科系臨床医学
Division

学位申請者 : 大谷 安司
Name

〔目的(Purpose)〕

日本では悪性腫瘍の死因のうち男女ともに肺癌が上位を占める。肺癌の15%を占める小細胞肺癌(SCLC)は一時的に抗癌剤、放射線に効果を示すがすぐに治療抵抗性となる。またすぐに臓器特異的に転移を起こし、5年生存率は5%に満たない。2002年以降治療選択肢は増えておらず、臨床の現場で小細胞肺癌の新薬が必要とされている。乳癌、非小細胞肺癌などと同様、多くの小細胞肺癌においてもCXCR4を発現しており、今回我々は小細胞肺癌の細胞運動および転移に対するCXCR4阻害の効果を検討した。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

- Flow cytometry, RT-PCR: SCLC細胞株SBC-5は、CXCR4の発現が認められた。
- Cell proliferation Assay: SBC-5をCXCR4のリガンドであるCXCL12 (100 ng/mL) またはTF14016 (100 nmol/L)存在下に培養した。細胞株SBC-5の増殖は、CXCL12, TF14016に影響を受けなかった。
- Adhesion assay: SBC-5 (1×10^5 /well)を96穴プレート上で、TF14016 (100 nmol/L) またはCXCL12 (100 ng/mL)の存在下に 37℃で2時間培養後、接着細胞数を評価した。CXCR4のリガンドであるCXCL12は細胞接着能を増強したが、TF14016はそれを抑制した。
- Transwell migration assay: SBC-5 (1×10^4 /100 μ L)をupper chamberにまき、lower chamberにCXCL12 (100 ng/mL)または TF14016 (100 nmol/L)を加え37℃で20時間培養した。CXCL12に対する細胞遊走能は促進され、TF14016はそれを抑制した。
- Time-lapse video microscope assay: SBC-5 (1×10^5)を2時間接着させた後、TF14016 (100 nmol/L) またはCXCL12 (100 ng/mL)を加えた。CXCL12存在下で細胞運動能は促進されたが、TF14016添加により抑制された。
- Immunoblotting: SBC-5をTF14016 (100 nmol/L) またはCXCL12 (100 ng/mL)を添加して蛋白を溶出し、免疫プロットした。CXCL12はERK1/2のリン酸化の変化を伴い、TF14016はリン酸化を抑制した。
- Experimental metastasis mouse model: オス6週齢のSCIDマウスに腫瘍接種2日前から週2回anti-asialo GM1 antibody, 200 μ gを腹腔内投与によってNK細胞を除去し、SBC-5 (2.5×10^6 /300 μ L)を尾静脈より接種した。さらにTF14016 (10mg/kg)またはvehicle (PBS)を腹腔内連日投与した。12週後組織学的解析を行った。肺表面の転移結節数はTF14016治療群において著明に減少した。転移結節中のMicrovessel density (MVD)はvehicle治療群で 901 ± 122 /mm², TF14016治療群では 525 ± 127 /mm²であった。VEGF陽性腫瘍細胞の割合もvehicle治療群は $82.9 \pm 5.35\%$, TF14016治療群は $8.92 \pm 4.25\%$ であった。
- Measurement of VEGF concentration: SBC-5にCXCL12 (100 ng/mL)またはTF14016 (100 nmol/L)を加え通常酸素または低酸素(1% O₂, 5% CO₂ and 94% N₂)条件下で24時間培養した。SCLC細胞株SBC-5は無刺激時VEGFを 362.5 ± 5.1 pg/mL産生し、CXCL12刺激時 389.8 ± 12.4 pg/mLと増加、TF14016で 298.8 ± 7.2 pg/mLと抑制される。低酸素状態では、VEGF産生は 485.8 ± 43.2 pg/mLとベースが上昇し、CXCL12刺激時 569.2 ± 26.3 pg/mLとさらに増加(p<0.02), TF14016で 449.8 ± 16.9 pg/mLと抑制された。TF14016治療群は、MVDおよびVEGF発現ともに低下し、in vitroでは、低酸素状態下であってもVEGF産生を有意に抑制した。

〔総括(Conclusion)〕

CXCR4阻害剤(TF14016)は、SCLCの転移抑制治療薬として有望であり、臨床応用が期待される。

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 大谷 安司

	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	大阪大学教授 熊 御 淳
	副 査	大阪大学教授 島 倉 伸 亨
	副 査	大阪大学教授 奥 村 明 之 進

論文審査の結果の要旨

日本では、悪性腫瘍が死因の一位となり、その中で肺癌は男女とも死因上位を占めている。小細胞肺癌は、肺癌の 15%を占め、予後も非常に悪い。進展型小細胞肺癌の場合 5 年生存率は 5%に満たない。肺腺癌は 2002 年以降分子標的薬、血管新生阻害抗体など新しい機序の薬が登場し、1970 年代の生存期間中央値が 10 ヶ月未満であったのが、現在 2 年を超えるような状態なりつつある。一方小細胞肺癌は 2002 年 amrubicin 以降新しい薬は登場しておらず、臨床の現場では、新しい薬が希求されている。

小細胞肺癌の予後規定因子の一つに転移がある。転移において重要な役割をケモカインは果たしている。特に CXCL12 は、骨髄間質細胞やリンパ節から分泌がなされ、CXCL12 の受容体である CXCR4 を出現させている癌細胞により、骨転移やリンパ節転移など臓器特異的転移を起こす。小細胞肺癌の転移好発部位と CXCL12 分泌臓器は一致するところがあり、小細胞肺癌の転移に CXCR4 の関連が推測される。CXCR4 阻害薬 TF14016 を用いて、細胞レベルで転移抑制を示唆する結果を認め、マウスの実験においても転移を抑制する結果を示した。今後小細胞癌の臨床応用において in vivo の実験は必要であり、現象論的ではあったが学位に値すると考える。