

論文内容要旨

Anti-tumor necrosis factor-alpha monoclonal antibody
suppresses colorectal cancer growth in an orthotopic
transplant mouse model

(同所移植マウスモデルにおいて抗 $\text{TNF}\alpha$ 抗体製剤は大腸
癌の成長を抑制する)

PLOS One. 2023 30;18

主指導教員：岡 志郎教授

(医系科学研究科 消化器内科学)

副指導教員：伊藤 公訓教授

(広島大学病院 総合診療科)

副指導教員：宿南 知佐教授

(医系科学研究科 生体分子機能学)

高砂 健

(医系科学研究科 医歯薬学専攻)

【背景と目的】

抗 TNF (腫瘍壊死因子) α 抗体製剤は、TNF α の活性を阻害することで炎症を抑制し、炎症性腸疾患や関節リウマチなどの自己免疫疾患に対する主要な治療薬として使用されることが増えてきている。しかし、TNF α はその名の通り当初は、腫瘍壊死を引き起こす因子として特定されたサイトカインあり、抗 TNF α 抗体製剤は、これまで免疫抑制による悪性腫瘍増悪のリスクが懸念されてきた。

近年、高齢の炎症性腸疾患および 関節リウマチの患者数が増加しており、より多くの癌患者が抗 TNF α 抗体製剤の投与を検討される事が想定される。さらに、腫瘍患者への免疫チェックポイント阻害剤の投与に伴う大腸炎などの免疫関連有害事象に対する抗 TNF α 抗体製剤の投与は今後増加すると予想される。そのため、抗 TNF α 抗体製剤が腫瘍に与える影響について調べることは実臨床において大きな意義があると考えられる。

観察研究では抗 TNF α 抗体製剤の悪性腫瘍増悪のリスクについて否定的な報告が見られ、基礎研究では炎症性発癌モデルや大腸癌皮下移植モデルなどで腫瘍抑制に働くことが報告されている。しかし、抗 TNF α 抗体製剤使用中に腫瘍が増悪したとの症例報告もあり、実際の抗 TNF α 抗体製剤の悪性腫瘍に対する影響については様々な見解があるのが現状である。また実臨床ではその他の免疫抑制剤を使用している症例も多く、抗 TNF α 抗体製剤単独での悪性腫瘍増悪のリスクについて評価するのは難しいと考えられ、基礎研究はひとつの有用な手段であると考えられる。これまで行われてきた皮下異種移植モデルは腫瘍微小環境 (TME) の再現性に乏しく、炎症性発癌モデルに関しては、薬剤が腫瘍自体に与える純粋な影響を評価することは難しいと考えられた。

そこで今回、我々は TME の評価に適し、腫瘍の進行、血管新生、浸潤、間質、転移の評価に推奨される大腸癌同所移植マウスモデルにおいて、腸炎がない状態での抗 TNF α 抗体製剤が移植腫瘍、および TME に与える純粋な影響を初めて評価することを目的とした。

また、TNF α は、高用量を腫瘍に直接投与するとその名の通り腫瘍壊死が誘発するが、腫瘍によって産生されるような少量の TNF α は腫瘍増殖に働く可能性も近年考えられており、実際に TNF α 自体が腫瘍増殖能に与える影響を同所移植に用いる CT26 細胞株に TNF α を加えて培養することで評価した。

【方法】

- ・CT26 細胞株に TNF α を投与し、インキュサイトにてタイムラプス観察を 2 日間行うことで細胞増殖能に TNF α が与える影響を評価した。
- ・BALB / c マウスの盲腸に BALB / c 由来の大腸癌細胞株である CT26 を移植することで同所移植モデルを作成した。移植日を含め 1 週ごとに抗 TNF α 抗体製剤を腹腔内投与し、移植 3 週後にサクリファイスを行い、腫瘍を摘出し腫瘍のサイズや重量の変化を測定した。
- ・摘出した腫瘍から RNA を抽出し、RNA シークエンス解析を行った。
- ・RNA シークエンス解析の結果に基づき腫瘍の増殖能、腫瘍免疫、間質、血管新生について免疫組織学的染色を行うことで、抗 TNF α 抗体製剤が TME に与える影響について評価した。

【結果】

大腸癌組織内の濃度に近い濃度の TNF α (100 pg/mL) と CT26 を培養した結果、コントロール群と比較して、48 時間で有意な細胞増殖が観察された。このことから大腸癌組織内の濃度に近い低い濃度では、TNF α は腫瘍増殖に働いていることが示唆され、大腸腫瘍において TNF α を抑制することは腫瘍抑制に働く可能性が考えられた。

同所移植モデルにおいて、コントロール群と比較して、抗 TNF α 抗体製剤群では腫瘍は縮小し、有意に重量、体積の減少を認めた。両群で明らかなリンパ節転移や肝転移は認めなかった。RNA シークエンス解析では、コントロール群と比べて抗 TNF α 抗体製剤群で免疫関連のパスウェイが亢進し、間質関連のパスウェイ、腫瘍増殖に関連したパスウェイが抑制され、Gene Ontology 解析ではそれらに加え血管新生の抑制を認めた。ネットワーク解析ではコントロール群と比べて抗 TNF α 抗体製剤群で FN (Fibronectin) 1、MMP (matrix metalloproteinase) 9 などの細胞増殖、浸潤に関わる遺伝子の抑制が目立ち、腫瘍細胞の増殖、浸潤の抑制、血管新生、腫瘍浸潤の抑制、アポトーシスの亢進といった機能に働くネットワークを形成していた。

免疫組織化学染色では腫瘍増殖の抑制 (Ki67)、アポトーシスの増加 (TUNEL)、間質反応の抑制 (α -SMA, Type1 collagen, Fibronectin)、血管新生の抑制 (CD31)、腫瘍免疫の亢進 (CD8, CD4, NKp46/NCR1) と腫瘍関連マクロファージの抑制 (F4/80, CD163) を認めた。

【結論】

大腸癌同所移植マウスモデルでは抗 TNF α 抗体製剤は腫瘍を縮小し、TME において腫瘍抑制に働いていた。