

学位研究紹介

乳癌骨転移モデルを使った組織化学的研究 Histochemical examination on bone-metastasized breast carcinoma.

新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔生命科学専攻
組織顎顔面再建学講座 組織再建口腔外科学分野,
摂食環境制御学講座 顎顔面解剖学分野¹
松本歯科大学総合歯科医学研究所²
島村拓也, 網塚憲生¹, 小澤英浩²

Department of Regeneration and Reconstruction, Division of
Reconstructive Surgery, Division of Oral Anatomy¹, Niigata
University Graduate School of Medical and Dental Sciences
Course for Oral Life Science. Institute for Dental Science,
Matsumoto Dental University²

Takuya Shimamura, Norio Amizuka¹, Hidehiro Ozawa²

【目 的】

骨転移した悪性腫瘍が増殖し浸潤領域を拡大するためには、転移巣における腫瘍細胞の増殖・活性化に適した細胞性環境を作る必要がある。すなわち、腫瘍細胞の増殖を可能とする「場」を獲得するために、破骨細胞形成誘導による骨吸収、および細胞外基質の分解および再構築、また、血管誘導因子の発現とそれともなう血管新生などの局所環境を形成する必要があると考えられる。そこで我々は、MDA-231ヒト乳癌細胞をもちいて米田・Arguelloらの骨転移モデルを作成し、比較的初期の骨転移における腫瘍細胞の増殖能、matrix metalloproteinaseなどの細胞外基質分解酵素の産生とtype I collagenや軟骨基質線維の微細構造的変化、血管内皮増殖因子(VEGF)の発現とCD31陽性を示す血管の局在、破骨細胞分化誘導因子(ODF)を有する間質系細胞、さらに破骨細胞とマクロファージの局在部位の特異性についても検索を行った。

【方 法】

5, 6週齢の雌性BALB/c nu/nuマウスの左心室にヒト乳癌細胞(MDA231細胞)を一匹あたり 1×10^6 個注入し二週間後にアルデヒド固定した。通法にしたがい微細構造を観察するとともに、パラフィン切片を作成し、酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ(TRAP)の酵素組織化学、組織非特異性アルカリ性ホスファターゼ(ALP) macrophage/monocyteを認識するF4/80, osteoclast

differentiation factor (ODF/OPGL), type I collagen, MMP-1, 9, CD31, の免疫組織化学, PTHrP, VEGF, ODF/OPGL, IL-1 β の RT-PCR, VEGFの in situ hybridizationを行った。

【結果と考察】

- 1) MDA-231ヒト乳癌細胞を培養条件下で検索したところ、PTHrP, MMP-9, VEGF, IL-1 β を産生していることがRT-PCRなどで確認された。
- 2) 腫瘍巣はmetaphysisの一次海綿骨梁間に形成され、腫瘍細胞の活発な細胞分裂が観察された。
- 3) 腫瘍細胞はin situ hybridizationにてもVEGFを発現していることが示され、多数のCD31陽性の血管が腫瘍巣内に入り込んでいたことから、腫瘍細胞による血管新生が考えられた。
- 4) 腫瘍巣内では、TRAP陽性を示す破骨細胞が、ALP陽性およびODF/OPGL陽性を示す間質細胞と細胞接触するか、または近接して局在した。なお腫瘍細胞にはODFの発現は認められなかった。これらの破骨細胞は腫瘍巣内部に局在するか、または周囲の骨基質間の間質に局在し、骨基質表面には活発な骨吸収像を示す破骨細胞が観察された。これに対し、腫瘍巣周囲の骨髄側ではALP陽性およびODF/OPGL陽性を示す間質細胞が少なく、破骨細胞よりもF4/80陽性macrophage/monocyte系の細胞が多数観察された。MDA231細胞はPTHrPを産生していることから、腫瘍細胞は骨芽細胞系間質細胞を介して破骨細胞形成を促進する可能性が示唆された。
- 5) 一方でMDA231細胞はIL-1 β を産生しており電子顕微鏡による観察でも腫瘍細胞と破骨細胞間に細胞相互作用を示唆する構造があることから、腫瘍細胞が直接破骨細胞を活性化させ骨吸収を亢進している可能性も考えられた。
- 6) 腫瘍細胞には軟骨基質に直接接触する部位における強いMMP-9の免疫反応が認められ、その部位での軟骨基質崩壊像が微細構造的に観察された。さらに腫瘍細胞はMMP-1も産生しており、腫瘍巣の細胞間には断片化、散在したtype I collagenが観察された。これらのことから、腫瘍細胞は石灰化していない基質をMMPsなどの基質分解酵素により直接破壊することが示唆された。

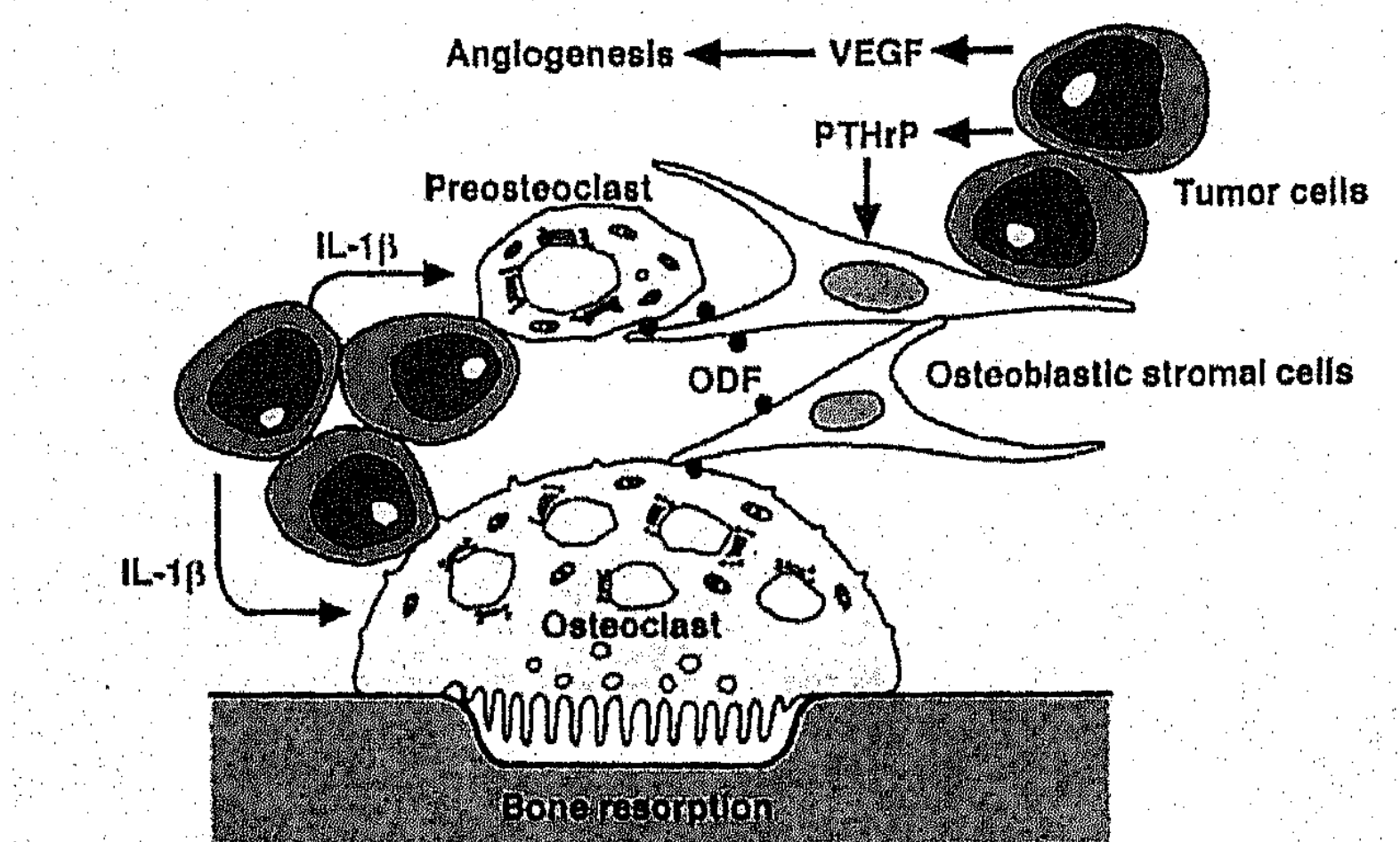


図 1

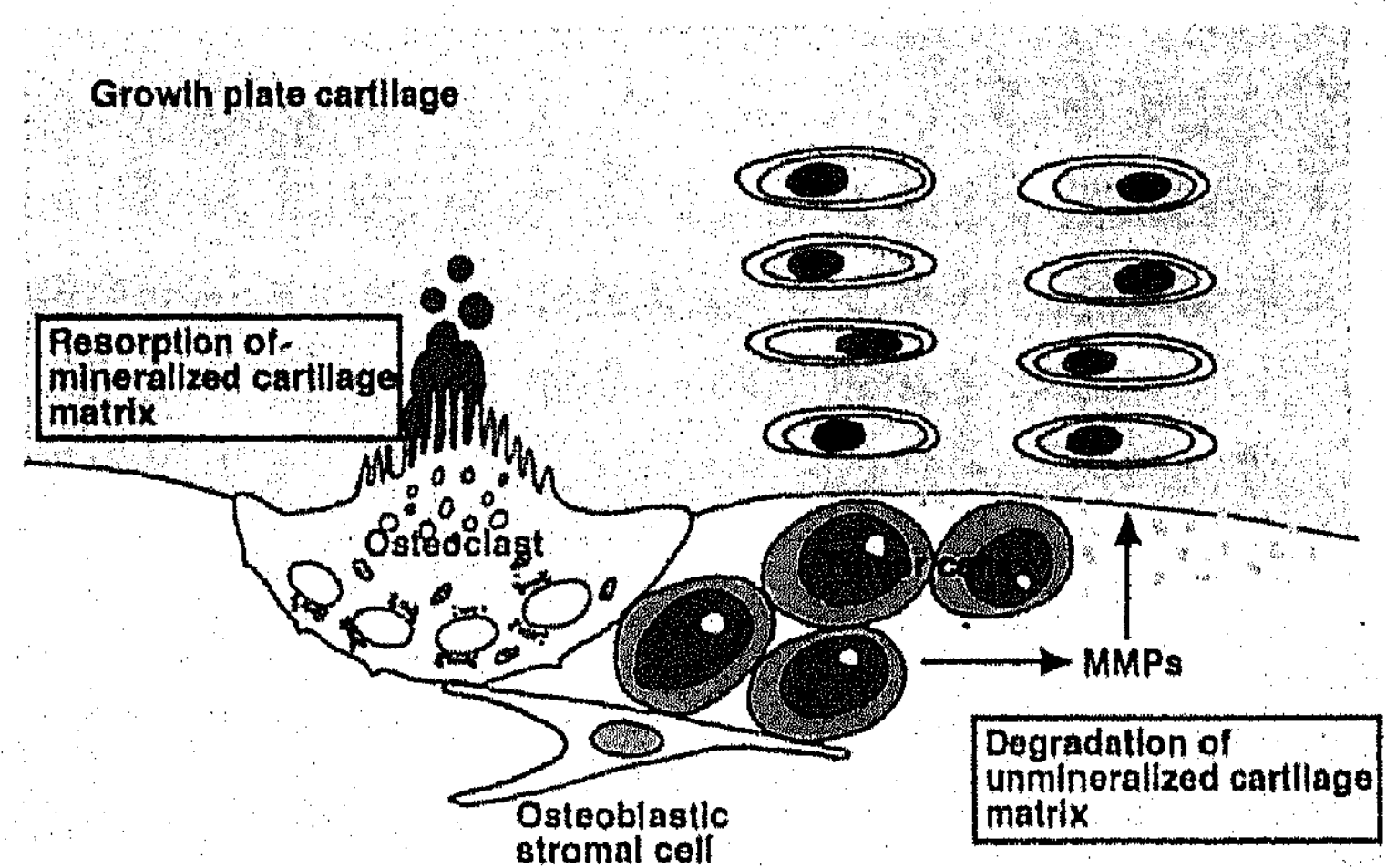


図 2

【結 論】

骨転移における腫瘍細胞は血管新生を誘導することにより、増殖・分化を活性化し、一方で、骨芽細胞系間質細胞を介した破骨細胞形成、IL-1βなどによる直接的な破骨細胞の活性化を行うことによる骨吸収、および周囲の石灰化していない細胞外基質の分解を行うことにより、積極的に腫瘍巣を拡大させる可能性が推測された。

図 1：骨転移した腫瘍細胞で誘導される破骨細胞性骨吸収を示したシェーマ

図 2：骨幹端部に転移した腫瘍による成長板軟骨の破壊を示したシェーマ