

論文の内容の要旨

氏名：大 島 雪 乃

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：Midazolam exhibits antitumour and antiinflammatory effects in a mouse model of pancreatic ductal adenocarcinoma

（ミダゾラムの膵癌自然発症マウスにおける抗腫瘍・抗炎症効果と癌性疼痛の改善効果）

【背景】近年、手術中の麻酔・周術期管理が患者の長期予後に影響することが報告され、鎮痛・鎮静薬のなかには細胞性免疫を抑制することが知られているが、膵癌におけるミダゾラムの効果は未だに不明である。今回、ミダゾラムの膵癌に対する抗腫瘍・抗炎症効果ならびに癌性疼痛への影響を明らかにするため、膵癌の自然発症モデルである KPPC マウス (LSL-KrasG12D/+;Trp53flox/flox;Pdx-1cre/+マウス) を用いて検討を行った。

【方法】遺伝子組換え委員会と動物実験委員会の承認を得た後、6週齢の KPPC マウスを3群に分け、① 30 mg/kg/day のミダゾラム (MDZ) 投与群 (n=13)、② 30 mg/kg/day の MDZ と 3mg/kg/day の末梢性ベンゾジアゼピン受容体拮抗薬である PK11195 (PK) の MDZ+PK 投与群 (n=10)、③ 飲水のみコントロール群(n=14)とした。生存曲線を Kaplan-Meier 法により求め、統計学的に Log-rank 検定を行った。癌性疼痛は Hunching と mouse grimace scale (MGS)でスコアリングし、one-way ANOVA 後の Tukey 検定を行った。エンドポイント時には膵腫瘍と全身諸臓器をサンプリングし、免疫組織化学的解析を行い、Tukey-Kramer 検定もしくは Steel-Dwass 検定を行った。各検定の $p < 0.05$ で有意差ありとした。血漿サイトカインの動態をサイトカイン抗体アレイにより半網羅的に解析した。MDZ の膵癌細胞株の増殖への影響を AlamarBlue 法にて検討し、細胞周期関連分子の発現をウェスタンブロッティング、アポトーシスの誘導に関してはフローサイトメーターにて解析した。

【結果ならびに考察】MDZ 群の膵管癌においては細胞増殖に関わる Ki-67, サイクリン D1, A2, B1 の陽性率はコントロール群と比較して有意に低下し、腫瘍体積が有意に縮小した。生存期間では有意差が得られなかった。また、MDZ 群では癌関連線維芽細胞 (CAF)の増殖を抑制し、腫瘍関連好中球 (TAN) や M2 様腫瘍関連マクロファージ (TAM), 多形核骨髄由来免疫抑制細胞 (PMN-MDSC)の局所浸潤を抑制した。一方、MDZ+PK 群においては CAF の増殖と M2 様 TAM の浸潤は抑制されたが、TAN と PMN-MDSC の浸潤は MDZ 群と比較して増加した。疼痛評価においても MDZ 群で Hunching と MGS スコアの低下を認めたのに対し、MDZ+PK 群ではコントロール群よりも両スコアが増加した。MDZ 群の血漿 $TNF\alpha$, $IL-1\alpha$, $IL-6$, $CCL2$, $CCL3$, $CCL5$, $CXCL1$ はコントロール群と比較して減少し、MDZ+PK 群で $TNF\alpha$ を除くサイトカインの増加を認めた。In vitro 解析においては MDZ が膵癌細胞株のサイクリンや CDK を低下させ、増殖を抑制し、後期アポトーシスを誘導した。これらの結果から、MDZ は膵癌マウスモデルにおいて膵癌細胞と CAF の増殖を抑制し、さらに TAN や M2 様 TAM, PMN-MDSC の局所浸潤を抑制することで炎症性サイトカインを低下させ、炎症性疼痛の軽減に寄与したことが考えられた。

【結語】MDZ は膵癌に対して抗腫瘍・抗炎症効果ならびに疼痛緩和効果を示す。