

学位論文抄録

ミッドカインを標的とした骨肉腫の新規治療戦略の開発

(Development of novel therapeutic strategy targeting midkine for osteosarcoma)

末吉 貴直

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻運動骨格病態学

指導教員

水田 博志 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻運動骨格病態学

安東 由喜雄 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻病態情報解析学

学位論文抄録

[目的] ミッドカインは、細胞の増殖、生存、遊走の促進などの性質を持つ塩基性のヘパリン結合性蛋白質で、近年では様々な癌組織での発現が報告されている。しかし、骨肉腫におけるミッドカインの役割や治療標的としての有用性については未だ不明な点が多い。そこで本研究では、骨軟部腫瘍におけるミッドカインの発現を確認し、原発性骨腫瘍で最も頻度の高い骨肉腫におけるミッドカインの役割を解析し、その新規治療標的としての可能性を検討することを目的とした。

[方法] 各種骨軟部肉腫におけるミッドカインの発現は手術時の切除標本を用いて免疫組織化学染色にて評価した。骨肉腫細胞におけるミッドカインの発現を small interfering RNA (siRNA) にて抑制し、細胞増殖活性を MTS 法にて解析し、細胞周期とアポトーシスの解析をフローサイトメトリー法にて行った。さらに、ミッドカイン発現を抑制した骨肉腫細胞を用いた尾静脈注射モデルにて骨肉腫の肺転移へのミッドカインの関与を確認し、骨肉腫同所移植マウスモデルに対して抗ミッドカインモノクローナル抗体の腹腔内投与を行い、腫瘍の成長や肺転移に対する治療効果を検討した。

[結果] 4 種類の骨軟部肉腫組織においてミッドカインの発現が認められた。骨肉腫、ユーイング肉腫においては約 8 割の症例にその発現を認め、特に発現率が高かった。siRNA を用いたミッドカイン発現抑制により、細胞周期は G1 アレストへ誘導されるとともに、アポトーシスが増加し、骨肉腫細胞の増殖は著しく抑制された。一方、リコンビナントミッドカインタンパク質の投与により、濃度依存的、時間依存的に骨肉腫細胞の増殖が促進された。in vitro、in vivo の実験において、抗ミッドカイン抗体投与により、骨肉腫細胞の増殖が抑制された。さらに肺転移に関しては、siRNA によるミッドカイン発現抑制に加え、抗ミッドカイン抗体投与によってもその発生率及び増大は著明に抑制された。

[考察] ミッドカインは骨肉腫において高発現しており、骨肉腫進展へのミッドカインの関与が示唆された。骨肉腫細胞の増殖はミッドカイン発現抑制により、著しく阻害されたが、その機序としては、G1 アレストへの誘導による細胞周期の阻害が重要であると考えられた。また、骨肉腫モデルマウスにおいては、抗ミッドカイン抗体の投与により、局所腫瘍の成長阻害だけでなく、肺転移も著しく抑制され、治療薬としての抗ミッドカイン抗体の可能性が示された。今後さらに、ミッドカインが骨肉腫の成長や複雑な転移過程に及ぼす影響を詳細に解析するとともに、その分子メカニズムを追及していく必要がある。

[結論] ミッドカインは骨肉腫進展に重要な役割を果たしており、抗ミッドカイン抗体が骨肉腫の治療において有用である可能性が示された。