

学位論文要約

Extended Summary in Lieu of the Full Text of a Doctoral Thesis

氏名： 江河 勇樹  
Full Name Egawa Yuki

学位論文題目： Therapeutic potential of CPI-613 for targeting tumorous mitochondrial  
Thesis Title energy metabolism and inhibiting autophagy in clear cell sarcoma

学位論文要約：

Summary of Thesis

淡明細胞肉腫は若年成人に発症する高悪性度肉腫である。根治療法としては、手術切除が選択されるが、リンパ行性転移が多く、再発率が高い。放射線治療・化学療法には耐性がある場合が多く、さらなる治療方法の開発が、待たれている。しかし稀な肉腫であり、治療方法の開発のためには、転移を含むヒト淡明細胞肉腫の病態を反映したモデル動物系が必要であるが、リンパ節転移、遠隔臓器転移を引き起こすモデル動物系は確立されていなかった。本研究で、われわれは、国内外に先駆けて、リンパ行性転移・遠隔転移をきたす淡明細胞肉腫マウスモデル系を確立し、 $\alpha$ -lipoic acid coenzyme analog と chloroquine の併用効果を検討した。1: *in vitro* で、HS-MM 細胞に CPI-613 のもたらす変化を、観察し、可視光化観察で、細胞質内小胞形成像がみられたため、オートファジーの有無を、DALGreen 法で検討した。また、CPI-613 と chloroquine 併用がもたらす影響、細胞死の性状について、Annexin V と propidium iodide 法を用いて検討した。

2: ヒト淡明細胞肉腫の代表的な細胞株である HS-MM、 $2.5 \times 10^7$  個 CB17.Cg-PrkdcscidLystbg-J/CrI CrIj (SCID-beige) のヒト淡明細胞肉腫の最好発部位である下腿筋腱膜近傍に移植した。

3: 週 2 回観察し 移植細胞が、 $4/3 \pi \times [a/2] \times [b/2]^2$  ( $a$  は長径、 $b$  は短径) の計算式で、 $2\text{mm}^3$  に達した時点で、ランダムに 2 群にわけ、1 群は、CPI-613 (25 mg/kg) と chloroquine (50 mg/kg) を腹腔内に投与した。もう 1 群は非投与とし、腫瘍増殖を検討した。別実験では 4 群に分け CPI-613 (25 mg/kg) 単独、chloroquine (50 mg/kg) 単独投与群、併用群、非投与群の腫瘍増殖も検討した。4: 非投与群の腫瘍径が  $200\text{mm}^3$  に達した時点で、転移の有無含む腫瘍進行状態を検討した。さらに移植部および転移部の腫瘍を病理組織学的、免疫組織化学染色および発現遺伝子を RT-PCR 法で検討した。

1: *in vitro* で CPI-613 は、HS-MM にオートファゴソーム形成をもたらす明らかになった。Chloroquine との併用では HS-MM の著明な細胞死が、みられ、その細胞死は necrosis であることが明らかになった。

2-4: HS-MM 細胞の SCID-beige マウス、移植系で、リンパ節転移、遠隔臓器転移がみられた。病理組織学的に移植部および転移部の腫瘍は、淡明な細胞質をもつ腫瘍細胞が、腫瘍血管を伴い、シート状に増殖しておりヒト淡明細胞肉腫の形態学的特徴に一致した組織像を呈していた。

免疫組織学的検討ではヒト淡明肉腫の特徴的なタンパク質発現、S-100、Microphthalmia Transcription Factor、HMB-45 の発現が、移植部および転移部でみられた。さらに、移植部および転移先のいずれでも淡明肉腫にみられる *ENS-ATF1* キメラ遺伝子産物が、RT-PCR 法で検出された。

CPI-613 単剤、chloroquine 単剤では腫瘍進行・転移抑制はみられなかったが、CPI-613、chloroquine 併用群では、移植部腫瘍増殖・転移のいずれも著明に抑制された。

ヒト淡明肉腫細胞株 HS-MM を用いて、リンパ行性転移を含むヒト淡明肉腫の生物学的特徴を備えたマウスモデルを開発した。CPI-613 は HS-MM 細胞にオートファジーを引き起こすことを明らかにした。

さらに CPI-613 および chloroquine 併用により、HS-MM 細胞に、necrosis が生じること、また、*in vivo* モデルにおいて、移植部のみならず転移が抑制されることを明らかにした。