

学位論文要約
Extended Summary in Lieu of the Full Text of a Doctoral Thesis

氏 名： 川島 啓佑
Full Name

学位論文題目： CD151 confers metastatic potential to clear cell sarcoma of the soft tissue
Thesis Title in animal model

学位論文要約：
Summary of Thesis

【緒言】

淡明細胞肉腫は若年成人に発生する高悪性度腫瘍である。手術摘除が根治治療のため選択されるが、リンパ行性転移を起しやすく、再発率が高い。さらに放射線治療・化学療法には耐性がある場合が多く、抗体治療、分子標的治療を含む新たな治療方法の開発が待たれている。

しかし淡明細胞肉腫は稀な悪性腫瘍であり、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での検討が必要である。

Cluster of differentiation 151 (CD151)は、細胞表面膜4回貫通タンパク質(tetraspanin)ファミリー分子であり、近年、その高発現が種々の悪性腫瘍で進行・転移を促進していることが報告され、CD151 を標的とした抗体治療の検討が始まっている。

本研究で申請者は、高転移能力をもつ淡明肉腫細胞で、CD151 が高発現していることを見出し、抗 CD151 抗体が淡明肉腫細胞の進行に及ぼす影響を、転移をきたす淡明細胞肉腫マウスモデルで検討した。さらに CD151 発現が淡明細胞肉腫の進行に関わる分子メカニズムを *in vitro* で検討した。

【対象と方法】

申請者は、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研究対象とした。

1: ヒト淡明細胞肉腫 HS-MM 培養細胞および、その高転移細胞株である HS-MM^{high} 細胞での CD151 発現を比較検討した。蛍光免疫染色および cell analyzer で、CD151 の細胞表面での発現を検討した。また、細胞全体での CD151 発現をイムノプロット法で検討した。

2: 抗 CD151 抗体(clone 50-6)投与による HS-MM^{high} 細胞の CB17. Cg-PrkdescidLystbg-J/Cr1Crlj (SCID-beige) 移植モデルによる細胞増殖および、その転移の変化を検討した。

1.2 × 10⁶ 個の HS-MM^{high} 細胞を 12 週齢の SCID-Beige mice の下腿筋腱膜近傍に移植し、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、約 10mm³ に達した時点で、ランダムに 2 群にわけ、1 群 4 匹には、抗 CD151 抗体 3mg を腹腔内に投与した。他方の 1 群 3 匹は非投与とし、腫瘍増殖および腹腔内リンパ節転移の程度を比較検討した。

さらに独立した別実験では各群 3 匹として、抗 CD151 抗体投与群、非投与群での腫瘍増殖、転移の程度を検討した。

3: siRNA 法で HS-MM^{high} 細胞の CD151 発現を抑制し細胞増殖能力、浸潤活性を検討した。

Qiagen (Valencia, CA, USA) の 2 種類の siRNA SI02777257, SI02777250 を Lipofectamine RNAiMAX (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) を用いて HS-MM^{high} 細胞に transfect し CD151 の発現を抑制し、細胞増殖能力、Matrigel Invasion 活性を検討した。また、gelatin zymography および MMP-9 Activity Assay kit (QuickZyme BioSciences) を用いた MMP-9 活性の検討、イムノプロット法を用いた SMAD3 リン酸化の程度の検討を行った。

【結果】

1: CD151 タンパク質の全細胞発現および細胞表面発現は、原株である HS-MM 細胞に比して、高転移能力を

もつ HS-MM^{high} 細胞で高まっていた。

2: 抗 CD151 抗体投与により, SCID-Beige mice における HS-MM^{high} 細胞の増殖は, 移植部分では抑制されなかったが, そのリンパ管侵襲は抑制され, 腹腔内リンパ節転移は有意に抑制された。

3: CD151 発現抑制により, *in vitro* でも HS-MM^{high} 細胞の増殖は抑制されなかったが, Matrigel invasion 活性は有意に抑制された。また, CD151 発現抑制により MMP-9 の発現および SMAD3 リン酸化は有意に抑制された。なお, siRNA SI02777257, SI02777250 のいずれを用いても CD151 の発現は抑制され, 同様の結果を得た。

【考察】

腎細胞癌, 骨肉腫, 肝細胞癌, 前立腺癌で, CD151 が “facilitator” for tumor metastasis として働くことが明らかにされ, 抗 CD151 抗体を持った抗体治療が検討されている。

本研究の結果は, 淡明細胞肉腫細胞でも CD151 発現が転移に寄与することを示唆している。その分子メカニズムとして, 他腫瘍で報告されていた SMAD3 活性化のみならず, MMP-9 発現亢進による局所浸潤能力の亢進, リンパ管侵襲が関係することが示唆された。

本研究 xenoplant マウスモデルで抗 CD151 抗体が, 著明にリンパ管侵襲および腹腔内リンパ節転移を抑制することは, ヒト淡明細胞肉腫における転移制御に抗 CD151 抗体が有用であることを示唆すると考えられる。

【結論】

転移をきたす淡明細胞肉腫モデルマウス系を用いて, CD151 発現亢進が局所浸潤, リンパ管侵襲および転移に重要な役割をはたしている可能性を見出した。

ヒト淡明細胞肉腫において, 手術摘除に引き続いての抗 CD151 抗体を用いた治療が, 術後の転移を抑制できる可能性をさらに検討すべきと考える。まず, 本研究での実験病理結果がヒト淡明細胞肉腫での病態を反映しているか, 転移部で CD151 の発現亢進がみられるかを含めて詳細に検討する必要がある。

[主論文公表誌]

KEISUKE KAWASHIMA, CHIEMI SAIGO, YUSUKE KITO, YUKI HANAMATSU, YUKI EGAWA and TAMOTSU TAKEUCHI CD151 confers metastatic potential to clear cell sarcoma of the soft tissue in animal model *Oncology Letters* (In press)