

氏名（本籍）	川 島 啓 佑 （岐阜県）
学位の種類	博 士（医学）
学位授与番号	甲第 1097 号
学位授与日付	平成 31 年 3 月 25 日
学位授与要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	CD151 confers metastatic potential to clear cell sarcoma of the soft tissue in animal model
審 査 委 員	（主査）教授 秋山 治彦 （副査）教授 清島 眞理子 教授 大沢 匡毅

論文内容の要旨

【緒言】

淡明細胞肉腫は若年成人に発生する悪性度の高い腫瘍であり、手術的摘除を行うことによって根治治療が期待される一方で、リンパ行性転移を来した場合には予後が悪いことが特徴である。また、多数の症例において本腫瘍は放射線治療・化学療法に対し抵抗性を示すことから、その効果的な治療を可能にするためには、抗体療法や分子標的療法などの新たな治療手段を確立することが急務である。しかし、淡明細胞肉腫は稀な腫瘍であることから、その病態発症機序について十分な解析がなされておらず、今後、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を活用するなどして、病態の分子的機序を解明することが求められている。

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、細胞の接着や遊走を制御する作用を持つ。また、近年、CD151 が種々の悪性腫瘍の浸潤や転移を促進していることが報告され、新規抗腫瘍創薬の標的分子として CD151 が注目を集めている。

本研究では、淡明肉腫細胞における CD151 の役割を解明するために、淡明肉腫細胞の転移能と CD151 の発現量との間の関連性について検討を行うとともに、浸潤性制御に関する CD151 の作用について解析を行った。同時に、淡明細胞肉腫マウスモデルを用いて、CD151 に対する抗体を用いた抗体療法の有効性について検討した。

【対象と方法】

1：ヒト淡明細胞肉腫 HS-MM 培養細胞および、その高転移性亜株である HS-MM^{high} 細胞での CD151 発現量を比較検討した。CD151 の細胞表面における発現については蛍光免疫染色法およびセルアナライザーによって解析を行った。また、細胞全体での CD151 発現についてはイムノブロット法によって解析を行った。

2：抗 CD151 抗体 (clone 50-6) 投与による HS-MM^{high} 細胞の CB17.Cg-PrkdcscidLystbg-J/CrlCrlj (SCID-beige) 移植モデルによる細胞増殖能および、その転移能の変化を検討した。そのために、 1.2×10^6 個の HS-MM^{high} 細胞を 12 週齢の SCID-Beige マウスの下腿筋腱膜近傍に移植し、形成された腫瘍が約 1cm³ に達した時点で、ランダムに対照群と抗体投与群の 2 群に分け、抗体投与群には抗 CD151 抗体 3mg を腹腔内に投与し、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。

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。2 種類の異なる siRNA について、それぞれを HS-MM^{high} 細胞に遺伝子導入することによって CD151 の発現を抑制した後、細胞増殖能およびマトリゲル浸潤活性の変化を測定した。また、細胞浸潤活性に関与するこ

とが知られている MMP-9 の活性化や SMAD3 のリン酸化の程度について、ゼラチンザイモグラフィー法およびイムノブロット法を用いて解析した。

【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、親株である 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 マウスにおける 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、マトリゲル浸潤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。

【考察】

腎細胞癌、骨肉腫、肝細胞癌、前立腺癌で、CD151 が腫瘍転移の促進因子として働くことが明らかにされ、抗 CD151 抗体を用い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。

論文審査の結果の要旨

申請者 川島啓佑は、淡明細胞肉腫のマウスモデル実験系に抗 CD151 抗体を投与することにより CD151 の高発現が腫瘍細胞のリンパ管侵襲および腹腔内リンパ節転移に関与していることを見出した。さらに *in vitro* 培養細胞系を用いて、淡明細胞肉腫細胞において CD151 発現抑制が MMP-9 および SMAD3 リン酸化を抑制することを見出し、リンパ管侵襲および腹腔内リンパ節転移の分子機序の一端を報告した。本研究成果は、淡明細胞肉腫における抗体治療の可能性を示唆し、今後の肉腫研究の発展に少なからず寄与すると認められる。

[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)