The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Deflection of VEGF action by SS18-SSX and composite VEGF- and CXCR4-targeted therapy in synovial sarcoma
Author(s)	若松, 透
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/50477
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	若松　透
論文題名 Title	Deflection of VEGF action by SS18-SSX and composite VEGF- and CXCR4-targeted therapy in synovial sarcoma (滑膜肉腫の3次元増殖におけるVEGF、CXCR4シグナルの重要性および分子標的としての可能性)

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

滑膜肉腫（SS)は悪性軟部腫瘍の約10%を占め、SS18-SSX融合遺伝子が特徴的であり、臨床上も診断マーカーとして使われている。またSS18-SSXは転写因子として働き、細胞の未分化性の維持、クロマチンリモデリングを介した高増殖能の獲得などの作用を持つ。しかし治療では手術治療と併用される大量化学療法や放射線治療に対し多くの症例で抵抗性を示す予後不良疾患であるため新規治療法が切望されている。

VEGFは腫瘍において組織内に血管を誘導し、栄養や酸素の供給に必要な血流が確保する。また、新生血管は腫瘍が転移する際の交通路ともなるため、VEGF分泌が亢進している腫瘍は悪性度が高い。そのため、VEGFは分子標的として注目され、ベバシズマブ（Bev）やパゾパニブ（Pazo)といった分子標的治療薬が他がん腫で臨床応用されている。SS細胞もVEGFを大量に分泌し、腫瘍組織内への旺盛な血管誘導と高率に肺転移が見られることから、SSの腫瘍増殖・転移能とVEGFとの関連が強く疑われる。よって本研究では、滑膜肉腫におけるVEGFシグナルの作用機序とSSに対するVEGF分子標的治療の抗腫瘍効果について解析を行い、新規治療法の可能性について検討した。

〔方法〕

我々の研究室で樹立したヒトSS細胞株、Yamato-SS、Aska-SSを対象とした。SS細胞のVEGFシグナル、CXCL12/CXCR4シグナルについてELISA,　ウェスタンブロット、免疫蛍光染色法を用いて検討した。軟寒天中でSS株を培養しVEGF分子標的薬であるBev,　Pazo、CXCR4抗体であるAMD3100によるコロニー形成の抑制効果を比較した。さらに、SS細胞株を皮下移植したヌードマウスにBev,　Pazo, AMD-070(経口CXCR4抑制剤）、イフォマイド（IFM）を投与し、単独投与群・非投与群・併用群における腫瘍体積の経時的変化を観察し抗腫瘍効果を比較検討した。またsiRNAによりSS18-SSXをノックダウンし、その状態でのVEGFシグナルの発現を検討した。さらにチューブ形成実験によってSS18-SSXとVEGFシグナルとの関係性を解析した。

〔成績(Methods/Results) 〕

SS細胞は三次元培養下でスフェロイドを形成すると多量のVEGFを産生した。さらにVEGF阻害剤は接着培養下では増殖抑制効果を示さなかったが、軟寒天中でのコロニー形成を抑制した。マウス異種移植モデルでVEGF阻害剤によって腫瘍増殖が効果的に抑制できた。その際に宿主からの血管新生阻害効果も認めた。よってVEGFシグナルは宿主からの血管新生の促進だけでなく、腫瘍細胞自身の増殖を促進することが示された。さらに、現在のSSに対する化学療法の第一選択薬であるIFMを併用すると、*in vitro, in vivo* の両方で細胞増殖をより効果的に抑制することが確認された。以上のことからVEGF分子標的治療と現在の化学療法との併用療法は効果的な新規治療法になり得ると考えられた。

SS18-SSX融合遺伝子はVEGFシグナルの発現には影響を与えなかった。しかしノックダウンによりチューブ形成が促進され、それをVEGF阻害剤で抑制できた。細胞の分化は血管内皮細胞マーカーであるCD31、vWFの免疫染色で陽性となっていたことからも裏付けられた。以上の結果から、SSにおいてSS18-SSXは細胞に対するVEGFシグナルの作用を分化から増殖にスイッチしていると考えられた。

腫瘍で血管新生が阻害されると低酸素誘導因子（HIF）の発現が亢進し、VEGF分子標的治療に抵抗性を示すことがある。そこで抵抗性の原因になりうる因子を探索し、CXCL12/CXCR4シグナルの転写レベルでの活性化が見出された。CXCL12/CXCR4シグナルは悪性腫瘍においては腫瘍増殖、転移の臓器指向性などに関わるシグナルとして近年注目されている。SS細胞はCXCL12、CXCR4のどちらも発現しており、AMD3100を作用させると、三次元培養下で細胞増殖が著明に抑制された。このとき、VEGF/VEGF受容体の発現に影響は無かった。一方、VEGFシグナルの抑制によってトグルスイッチのようにCXCL12の発現上昇が認められた。このことから、両シグナル経路を同時に抑制すれば相乗的な抗腫瘍効果が得られる可能性が高いと考え、薬剤の併用実験を行った結果、併用群の方がより効果的に細胞増殖を抑制した。

〔総　括(Conclusion)〕

本研究により、SS18-SSX存在下でVEGFシグナルは腫瘍増殖を促進していることを明らかにし、現行の化学療法とVEGFおよびCXCL12/CXCR4に対する分子標的薬療法を組み合わせ、SSの予後改善に繋がり得る新規治療法を提案した。

[Format-H07]

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）若松　透

		（職）	氏　　名
論文審査担当者	主　査	大阪大学教授	吉川 秀樹
	副　査	大阪大学教授	森　正樹
	副　査	大阪大学教授	森井 亜一

論文審査の結果の要旨

論文発表者は、患者組織由来の滑膜肉腫細胞を解析しVEGFシグナルが、その腫瘍増殖に関与していることを発見した。またその解析方法として、3次元培養モデルを用いることで、VEGF阻害剤の滑膜肉腫細胞に対する増殖抑制効果を詳細に示した。更に滑膜肉腫に特徴的な融合遺伝子SS18-SSXとVEGFシグナルの関係についても深く解析した。その結果、滑膜肉腫において、VEGFシグナルは本来血管内皮細胞への分化を促すものであったが、融合遺伝子によってその効果が偏向され腫瘍増殖に傾いていることを示した。また、滑膜肉腫にはケモカインCXCL12とレセプターCXCR4両者が発現しており、特にCXCR4は三次元培養下で発現が亢進することを見出した。そこで、CXCR4阻害剤のAMD3100を作用させた結果、三次元培養下で細胞増殖が著明に抑制された。また、VEGF/VEGFRの発現に影響は無かったことからCXCL12/CXCR4とVEGF/VEGFRは互いに独立して制御されていると考えられた。以上の研究成果に基づいて、現行の化学療法とVEGFおよびCXCL12/CXCR4に対する分子標的薬療法を組合せ、滑膜肉腫に対し効果的な新規治療法を提案し報告した。この研究はOncology,とりわけ肉腫に対する分子標的治療の研究を推し進め、肉腫治療に貢献するものであり英文学術誌Cancer Scienceに掲載された。従って本研究は学位授与に値するものと考えられる。