The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Downregulation of SS18-SSX1 expression by small interfering RNA in synovial sarcoma enhances the focal adhesion pathway and inhibits anchorage-independent growth in vitro and tumor growth in vivo.
Author(s)	竹中, 聡
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58095
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。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

【6】

氏　　名	竹中　聡（たけなか　さとし）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　２４１０１　号
学位授与年月日	平成22年4月19日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科外科系臨床医学専攻
学　位　論　文　名	Downregulation of *SS18-SSX1* expression in synovial sarcoma by small interfering RNA enhances the focal adhesion pathway and inhibits anchorage-independent growth *in vitro* and tumor growth *in vivo*. （滑膜肉腫におけるSS18-SSX1をsiRNAによって抑制することはfocal adhesion経路を亢進し、足場非依存的増殖およびvivoでの腫瘍増大を抑制する）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　吉川　秀樹 （副査） 教　授　森　　正樹　　教　授　月田早智子

論　文　内　容　の　要　旨

〔　目　　的　〕

滑膜肉腫は18番染色体とX染色体の相互転座によって生じる融合遺伝子SS18-SSXによって発生することが分かっているが、その融合遺伝子の機能は十分に明らかになっていない。本研究では3種類の滑膜肉腫細胞株を用い、SS18-SSXの発現をsiRNAによって抑制することでその機能を解析するとともに、SS18-SSXの発現抑制が治療につながりうるかを検討した。

〔　方法ならびに成績　〕

SS18-SSX1に対する配列特異的siRNAを複数作成し、抑制効果の高かった2種を実験に用いた。滑膜肉腫細胞株は京都大学で樹立されたYaFuSSとわれわれが滑膜肉腫患者より樹立した細胞株YamatoSSおよびAskaSSの3種類を用いた。SS18-SSX1の発現抑制により、3種類全ての細胞株において、細胞間接着が弱まり細胞外基質との接着が増強するという形態変化を観察し、adhesion assayでこの変化を定量した。この形態変化はsiRNA不応性のSS18-SSX1をre-expressionさせることでRescueされた。また、2次元増殖能に対する影響は細胞株によって異なりAskaSSではSS18-SSX1の発現抑制により2次元増殖能が増大したが、3次元増殖能は3種類すべての細胞株でSS18-SSX1の発現抑制により減弱した。マイクロアレー解析において、SS18-SSX1の発現抑制により全ての細胞株で共通して発現が2倍以上亢進した遺伝子は44遺伝子で、KEGG pathway解析によりFocal adhesion に関与する遺伝子が6遺伝子で最も多く、観察された細胞形態変化と一致

した。6遺伝子の中に含まれていたMYLKに関して、MYLK inhibitorであるML-9を作用させるとSS18-SSX1の発現抑制による形態変化が抑制された。また、nude mouse xenograft model においてsiRNA liposome 製剤の静脈内投与によって腫瘍増大の遅延が観察された。

〔　総　　括　〕

以上の結果より、SS18-SSX1は細胞と細胞外基質との接着をMYLKを介して調節し、細胞外基質非依存的な3次元増殖を促進する。このことが滑膜肉腫の発生および増大に関与すると考えられ、SS18-SSX1の発現抑制は治療につながる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

論文の内容は3種類の滑膜肉腫細胞株を用いて滑膜肉腫の特異的融合遺伝子であるSS18-SSX1をsiRNAによって抑制し、SS18-SSX1の機能を解析するとともに、siRNAによるSS18-SSX1の抑制が治療法になり得るかを検討したものである。実験結果はSS18-SSX1を抑制するとMYLKの発現量が増加し、Focal adhesion pathwayが促進され、Anchorage-independent growthを抑制するという結果であった。このことからSS18-SSXはMYLKの発現量を抑制することでanchorage-independent growthを促進させていることが示唆される。また、nude mouse zenograftモデルにおいてliposome 製剤に包含したsiRNAを尾静注すると腫瘍の増大が抑制されたことからSS18-SSX1に対するsiRNAが新たな治療法になり得る可能性が示唆された。滑膜肉腫の原因遺伝子SS18-SSX1の機能解析として滑膜肉腫細胞を用いたLoss of function studyはこれまで報告がなく、新しい手法でSS18-SSX1の機能を解析したものであり新規性が高い。また、siRNAの動物実験を行い新たな治療法の開発の可能性も示唆するもので、学位に値するものと考える。