

Title	Survivin selective inhibitor YM155 promotes cisplatin-induced apoptosis in embryonal rhabdomyosarcoma
Author(s)	上野, 豪久
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59545
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	上野 豪久
論文題名 Title	Survivin selective inhibitor YM155 promotes cisplatin-induced apoptosis in embryonal rhabdomyosarcoma (サバイビン選択阻害剤YM155は胎児型横紋筋肉腫のシスプラチン依存アポトーシスを促進する)
論文内容の要旨	
〔目 的(Purpose)〕 近年注目されているがん分子標的治療薬は、がん細胞に選択的に作用することが期待され、新たな医薬品の開発につながると考えられている。がん細胞に発現しているサバイビンはアポトーシス阻害因子の一つであり、カスパーゼを阻害することでプログラム細胞死の重要な制御因子として作用している。サバイビンを標的とした分子標的薬剤YM155は、サバイビンのみを特異的に阻害する阻害剤である。そこで小児軟部肉腫の中でも予後不良な横紋筋肉腫におけるYM155の治療薬としての可能性を検討するために、人由来の胎児型横紋筋肉腫の細胞株であるRD細胞を用いて、YM155によるサバイビンの抑制の効果を研究した。特に、従来の抗がん剤の副作用軽減のための新しい治療薬のレジュメを探索するために、YM155単独ならびに、抗がん剤であるシスプラチンとYM155の併用効果を、ラットへの細胞移植モデルを使用して検証した。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 方法： RD細胞株におけるサバイビンの発現に対するYM155の抑制効果を、サバイビンのmRNAの発現をリアルタイムPCR法を用いて測定を行う。次に、サバイビンのタンパク発現をウエスタンブロット法を用いて測定した。RD細胞株に対するYM155の抗腫瘍効果を測定するために、RD細胞株を様々な濃度のYM155を加えた培地で培養し、WST-8アッセイを用いて生存率を測定した。また、同様にしてシスプラチンと併用した際の抗腫瘍効果を測定するために、YM155に加えてシスプラチンを投与した培地で培養したRD細胞株の生存率も同様に測定した。シスプラチン依存のアポトーシスを検証するために、アネキシンVをフローサイトメトリーで検出した、また、カスパーゼ3の活性を測定した。最終的に、生体内でのYM155の作用を検討するために、ヌードマウスの腫瘍モデルを作成し、YM155、シスプラチンを単独もしくは併用して腹腔内に4週間投与を行い、腫瘍増殖抑制能を検討した。マウスの形成された腫瘍でのアポトーシスを検討するために、サバイビンとTUNNEL免疫染色を実施した。 成績： RD細胞株のサバイビンmRNAの発現は、10nMのYM155を混合した培地においては24時間培養によってコントロールの72%、48時間培養後では24%まで低下した。また、サバイビンのたんぱく質発現量も低下を認めた。YM155 存在下の培養において、RD細胞株の増殖は濃度依存的に抑制され、10nMのYM155の存在下においてはコントロールに対して48時間で58%の生存率と抑制されることが分かった。次にシスプラチンとYM155の併用下におけるRD細胞株の増殖能はシスプラチン単独のものに比べて濃度依存的に減少した。フローサイトメトリーにおけるアネキシンVの発現はコントロールの1.0%に比較して、YM155とシスプラチンの共培養では2.0%と増加し、また、カスパーゼ3活性もYM155存在下でシスプラチンを投与したものは増加を認めた。このことから、YM155は単独、並びにシスプラチン存在下でRD細胞株にアポトーシスを誘導することが示唆された。RD細胞株を接種したヌードマウスにおける腫瘍増殖効果においては、YM155とシスプラチンを併用したものではコントロールに比べて投与4週目で13%の著明な腫瘍抑制効果 ($P < 0.0001$) を認めた。また、4週目に義死したマウスの腫瘍において、コントロールに比較してYM155とシスプラチンの併用群では、サバイビンの発現が低下し、TUNNEL染色の増強が認められアポトーシスが亢進していることが示唆された。 〔総 括(Conclusion)〕 以上より胎児型横紋筋肉腫のRD細胞株において、YM155はサバイビンを抑制することにおいてシスプラチンに対する感受性を増大させた。このことから、YM155がアポトーシス促進剤として、単独、もしくはシスプラチンとの併用によって悪性横紋筋肉腫の治療の分子標的薬として応用できる可能性が示唆された。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 上野 豪久			
論文審査担当者		(職)	氏 名
	主 査	大阪大学教授	奥山 宏臣
	副 査	大阪大学教授	古井 英一
	副 査	大阪大学教授	森 正樹
論文審査の結果の要旨 癌細胞に特異的に発現しているサバイピンは細胞死の重要な制御因子として作用している。サバイピンを標的とした分子標的薬剤YM155はサバイピンのみを特異的に阻害する阻害剤であり、横紋筋肉腫におけるYM155の治療薬としての可能性を検討するために、胎児型横紋筋肉腫の細胞株を用いてYM155によるサバイピン抑制効果を研究した。特に新しい治療薬のレジュメを探索するために、YM155単独ならびに抗がん剤であるシスプラチンとYM155の併用効果を、細胞培養と細胞移植モデルを使用して検証した。 胎児型横紋筋肉腫細胞株において、YM155はサバイピンを抑制することによって増殖を抑制し、シスプラチンに対する感受性を増大させた。このことから、YM155がアポトーシス促進剤としてシスプラチンとの併用によって胎児型横紋筋肉腫の治療薬として応用できる可能性が示唆されたため、学位の授与に値すると考えられる。			