OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Trabectedin is a promising antitumor agent potentially inducing melanocytic differentiation for clear cell sarcoma
Author(s)	中井, 隆彰
Citation	大阪大学, 2018, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/69439
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

[Format-H07]

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名） 中井　隆彰

	（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	和田　澄
副　査	大阪大学教授	古井英一

論文審査の結果の要旨

淡明細胞肉腫は12番染色体と22番染色体の染色体転座により生じる融合遺伝子EWS-ATF1を特徴とし、メラノサイトへの分化を示す高悪性度軟部肉腫である。現在、有効な治療法は外科的切除以外になく、新規治療薬の開発が求められている。トラベクテジンは、海洋産物由来の新規抗悪性腫瘍薬であり、DNAの修復阻害機構を有し、軟部肉腫に対して臨床応用されている。本論文では、淡明細胞肉腫に対するトラベクテジンの抗腫瘍効果について、細胞株を用いin vitro および　in vivoで実験を行った。いずれにおいても著明な抗腫瘍効果を認め、またその作用機序として、過去に報告のないメラノサイトへの分化誘導が示唆された。今後、臨床においても淡明細胞肉腫に対してトラベクテジンが分化誘導薬として使用されることが期待される。以上より、本論文審査において学位の授与に値すると考えられる。

論　文　内　容　の　要　旨

Synopsis of Thesis

氏　名 Name	中井　隆彰
論文題名 Title	Trabectedin is a promising antitumor agent potentially inducing melanocytic differentiation for clear cell sarcoma （Trabectedinは淡明細胞肉腫の分化を誘導して抗腫瘍効果を発揮する）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

淡明細胞肉腫は12番染色体と22番染色体の染色体転座により生じる融合遺伝子EWS-ATF1を特徴とし、メラノサイトへの分化を示す高悪性度軟部肉腫である。治療として外科的切除や放射線治療が行われているが、局所再発や肺転移を含む遠隔転移の発生により5年生存率は30%～67%と予後不良であり、新規治療薬の開発が求められている。

Trabectedinは海洋産物（ホヤ）由来の新規抗悪性腫瘍薬で、DNAに結合し細胞分裂、遺伝子転写、DNA修復機構を妨げるとされる。欧州では進行性軟部肉腫に臨床応用されており、わが国でも染色体転座関連肉腫に対して臨床試験が行われ、臨床応用が開始された薬剤である。しかしながらその作用機序についてはいまだに不明な点が多く、淡明細胞肉腫に対する基礎実験の報告は過去にない。今回我々は、ヒト淡明細胞肉腫細胞株に対するtrabectedinの抗腫瘍効果およびその作用機序を報告する。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

当研究室で樹立したヒト淡明細胞肉腫細胞株Hewga-CCS、Senju-CCSおよびSU-CCS1、MP-CCS-SY、KASの計5株を用いた。これらの淡明細胞肉腫細胞株に対するtrabectedinの*in vitro*, *in vivo*実験系における抗腫瘍効果と、その作用機序につき検討した。最初に、本剤の*in vitro*における細胞増殖抑制効果をWST-1 assayで評価し、細胞周期に対する影響をフローサイトメトリーにて解析した。続いてアポトーシスの誘導効果やメラノサイト分化マーカー（MITF、TRP2、TYR）の発現変化をイムノブロット法にて評価した。さらに*in vivo*でHewga-CCS、KASの担癌マウスモデルを用いて、本剤投与による腫瘤増大抑制効果とメラノサイトへの分化誘導効果を検討した。

5株全てでtrabectedinによる細胞増殖抑制効果が観察され、IC50はいずれも1nM未満であった。フローサイトメトリーによる解析では、薬剤投与により1nMでG2/M期、10nMでsubG1期の比率の上昇が観察された。また濃度依存的にCleaved caspase-3の発現が増加した。さらに5nMの投与でメラノサイト分化マーカー（MITF、TYR、TRP2）の発現が経時的に増加した。また、融合遺伝子EWS-ATF1の発現に変化は認めなかったが、ERKのリン酸化の抑制がメラノサイト分化マーカーの上昇と同時に観察され、同様の現象は選択的ERK阻害剤（SCH772984）の投与でも観察された。続いて行ったin vivo実験系においてもHewga-CCSおよびKAS細胞株で腫瘤増大抑制効果を認めた。Hewga-CCS細胞株での免疫組織染色では、薬剤投与群でPCNA陽性細胞数が減少し、Cleaved caspase-3陽性細胞数が増加しており、フォンタナ・マッソン染色では、薬剤投与群でメラニン陽性細胞数の増加を認めた。

〔総　括(Conclusion)〕

Trabectedinは低濃度で淡明細胞肉腫のG2/M期で細胞周期の進行を抑制、アポトーシスを誘導しin vitro, in vivoで高い抗腫瘍効果を発揮した。過去に、trabectedinは粘液型脂肪肉腫の脂肪分化やEwing肉腫の神経分化を誘導したという報告がある。本研究においてもtrabectedin投与によりin vitroでメラノサイト分化マーカーの上昇を認め、in vivoではメラニン陽性細胞数が増加しており、trabectedinが淡明細胞肉腫のメラノサイトへの分化誘導を促進している可能性が示唆された。淡明細胞肉腫と同様にメラノサイトへの分化を示す悪性黒色腫において、ERKシグナルの活性化がMITFの分解を抑制することが報告されている。今回の実験では、薬剤投与によりERKのリン酸化が抑制され，同時にメラノサイト分化マーカーの発現が経時的に増加していた。過去に報告のないtrabectedinの新たな作用機序として、ERKシグナルの不活性化を介したメラノサイトへの分化誘導を促進している可能性が示唆された。本薬剤が分化誘導療法剤の一つとして淡明細胞肉腫に対する有望な治療薬となり得る可能性が示された。