

## 末吉 貴直 氏の学位論文審査の要旨

### 論文題目

ミッドカインを標的とした骨肉腫の新規治療戦略の開発

(Development of novel therapeutic strategy targeting midkine for osteosarcoma)

ミッドカインは、細胞の増殖、生存、遊走の促進などの性質を持つ塩基性のヘパリン結合性蛋白質で、近年では様々な癌組織での発現が報告されている。しかし、骨肉腫におけるミッドカインの役割や治療標的としての有用性については未だ不明な点が多い。そこで本研究では、骨軟部腫瘍におけるミッドカインの発現を確認し、原発性骨腫瘍で最も頻度の高い骨肉腫におけるミッドカインの役割を解析し、その新規治療標的としての可能性を検討した。

各種骨軟部肉腫におけるミッドカインの発現は手術時の切除標本を用いて免疫組織化学にて評価した。骨肉腫細胞におけるミッドカインの発現を small interfering RNA (siRNA) にて抑制し、細胞増殖活性を MTS 法にて解析し、細胞周期とアポトーシスの解析をフローサイトメトリー法にて行った。さらに、ミッドカイン発現を抑制した骨肉腫細胞を用いた尾静脈注射モデルにて骨肉腫の肺転移へのミッドカインの関与を確認し、骨肉腫同所移植マウスモデルに対して抗ミッドカインモノクローナル抗体の腹腔内投与を行い、腫瘍の発育や肺転移に対する治療効果を検討した。

結果として、4 種類の骨軟部肉腫組織においてミッドカインの発現が認められた。骨肉腫、ユーイング肉腫においては約 8 割の症例にその発現を認め、特に発現率が高かった。siRNA を用いたミッドカイン発現抑制により、細胞周期は G1 アレストへ誘導されるとともに、アポトーシスが増加し、骨肉腫細胞の増殖は著しく抑制された。一方、リコンビナントミッドカインタンパク質の投与により、濃度依存的、時間依存的に骨肉腫細胞の増殖が促進された。*in vitro*、*in vivo* の実験において、抗ミッドカイン抗体投与により、骨肉腫細胞の増殖が抑制された。さらに肺転移に関しては、siRNA によるミッドカイン発現抑制に加え、抗ミッドカイン抗体投与によってもその発生率及び発育は著明に抑制された。

審査の過程で、(1) ミッドカインの発現と臨床病理学的因子の関連、(2) 抗ミッドカイン抗体の副作用、(3) ミッドカインの cell cycle への影響、(4) ミッドカインの形態形成・分化における役割、(5) 骨折時のミッドカインの発現、(6) 骨分化とミッドカインの関係、(7) 143B 細胞を用いた理由、(8) ミッドカイン抗体の *in vitro*、*in vivo* における効果の相違の理由、(9) ミッドカインの receptor、(10) ミッドカイン欠損マウスの表現型、(11) ミッドカインの骨肉腫細胞に対する効果は autocrine、paracrine か、などについて活発な質疑が行われ、申請者からは適切な回答が得られた。

本研究は、ミッドカインが骨肉腫において高発現しており、骨肉腫の発育・進展において重要な役割を果たしていること、また、抗ミッドカイン抗体の投与により、腫瘍の増殖のみならず、肺転移も著しく抑制され、治療薬としての抗ミッドカイン抗体の可能性を明らかにした点で高く評価され、学位に相当すると考えられる。

審査委員長 消化器外科学担当教授

馬場 秀夫

# 審査結果

学位申請者名：末吉 貴直

分野名またはコース名：運動骨格病態学

学位論文題名：

ミッドカインを標的とした骨肉腫の新規治療戦略の開発

(Development of novel therapeutic strategy targeting midkine for osteosarcoma)

指導：水田 博志 教授、安東 由喜雄 教授

判定結果：

可

不可

不可の場合：本学位論文名での再審査

可

不可

平成24年 2月 6日

審査委員長 消化器外科学担当教授

馬場 秀夫

審査委員 乳腺・内分泌外科学担当教授

岩瀬 弘敬

審査委員 機能病理担当学教授

伊藤 隆明

審査委員 免疫学担当准教授

桑原 一彦