

論文の内容の要旨

1 申請者

防衛医科大学校 米倉 由子

2 論文題目

血管肉腫における高発現遺伝子の探索とその機能解析に関する研究

3 論文の内容の要旨（博士：2,000 字程度）

血管肉腫は予後が非常に不良で、高齢者に好発する比較的稀な間葉系悪性腫瘍であるが、比較的診断が難しく、かつ進行が速い。近年、本邦では増加傾向にあるという報告もあり、きたる高齢化社会において問題となる可能性がある。

現在、血管肉腫の病態が殆ど解明されていないため治療標的となる分子が未だみつからない。現在の治療の第一選択である抗がん剤治療は、特に患者が高齢者の場合、副作用により用いることができないケースも多い。

本研究にて血管肉腫のバイオマーカーあるいは治療標的となり得る分子を見出そうと試みた。まず、ヒト由来の唯一の血管肉腫細胞株（ISO-HAS-B：東北大学加齢医学研究所）と対照としてはヒト皮膚微小血管内皮細胞（HDMEC）を用いて、遺伝子発現プロファイルの解析を行い、ISO-HAS-B で発現亢進がみられた遺伝子の中から osteopontin (OPN) と scinderin (SCIN) に注目し、同細胞株におけるこれらの遺伝子の機能解析を主として siRNA の導入実験によって実施した。さらに、これらの 2 分子につき、過去の手術、生検で得られた血管肉腫組織におけるタンパク質レベルの発現の変化を免疫組織化学法で確認し、臨床的意義について検討した。

ISO-HAS-B は HDMEC に比べ、mRNA、タンパク質の両レベルで OPN を高

発現していた。また、siRNA を用いた細胞増殖能解析では、ctrl siRNA 導入群と OPN siRNA 導入群の増殖能に有意差はみられなかったが、scratch assay による細胞遊走能解析や migration, invasion assay では、ctrl に比べ OPN siRNA 導入群で細胞遊走能が高かった。免疫細胞染色は、OPN siRNA 導入群において F-actin の発現が亢進し、形態変化を認めた。切除検体において、OPN の発現は良性血管性腫瘍に比較し、血管肉腫にてより高頻度で観察された。

ISO-HAS-B は HDMEC に比べ、mRNA、タンパク質の両レベルで SCIN を高発現していた。細胞増殖能解析では、SCIN siRNA 導入群は ctrl siRNA 導入群と比較して 48, 72 時間後ともに細胞増殖が低下し、細胞周期解析では、S 期、G2/M 期細胞共に SCIN siRNA 導入群の方が ctrl 群に比べ陽性細胞数の割合が低かった。アポトーシス陽性細胞の割合に有意差はなかった。

ISO-HAS-B 細胞株において OPN の増殖能への寄与は確認出来なかったが、OPN は遊走能、浸潤能の抑制に関与することが示唆された。また、SCIN は ISO-HAS-B 細胞株の増殖能の亢進と、遊走能の抑制に関わることが示唆された。免疫組織化学による切除検体の検討では OPN、SCIN 共に血管肉腫のみで高頻度に強い発現を示していたことから血管性病変の良悪性鑑別に有用と考えられた。これらの知見を統合すると、OPN は血管肉腫細胞の腫瘍形成、SCIN は血管肉腫細胞の増殖と腫瘍形成を通じて、血管肉腫の生物学的特性の獲得に関わっている可能性が考えられた。今後マウスを用いた腫瘍形成実験を含む in vivo の検討や症例を追加した検討を継続し、これらの分子が血管肉腫のバイオマーカーや治療標的となり得るかについてデータを蓄積していきたい。

4 キーワード（5 個程度）

「血管肉腫」、「osteopontin (OPN)」、「scinderin (SCIN)」、「siRNA」、「機能解析」