

論文内容要旨

Establishment of high-specific anti-podoplanin mAb and analysis of podoplanin expression in osteosarcoma

高感度抗ポドプラニン抗体の樹立と骨肉腫におけるポドプラニン発現の検討

責任講座： 整形外科学 講座
氏名： 大木 弘治

【内容要旨】 (1,200 字以内)

骨肉腫は原発性悪性骨腫瘍の中で最も発生数が多く、早期より肺転移を来すことが知られている。1970年代は20%未満であった5年生存率は、近年の化学療法の発展に伴い、初診時に転移を認めない症例では70-90%程度にまで改善した。一方、約14%の症例で初診時より肺転移を認め、その5年生存率は20-40%程度にまで低下する。また、多剤併用での化学療法では聴神経障害や心毒性、二次性の悪性腫瘍の発生などの問題があり、従来の化学療法に代わる骨肉腫に対する新たな分子標的治療の開発が望まれている。

I型膜貫通タンパクであるポドプラニン (PDPN) は、骨肉腫をはじめ、悪性脳腫瘍、悪性中皮腫、肺癌、食道がん、卵巣がん、精巣腫瘍など様々な悪性腫瘍で発現が認められ、がん細胞の浸潤や転移にも関わることも報告されている。悪性脳腫瘍においては、PDPNの発現が予後不良因子であることが知られている。一方、PDPNは血小板のC-type lectin-like receptor-2に結合することで、血小板凝集を引き起こす。この結合にはPDPNのplatelet aggregation-stimulating (PLAG) domain (29から54番目のアミノ酸配列) が関与している。既にポドプラニンに対する抗体としてNZ-1やD2-40が開発されているが、その抗原認識部位はPLAG domainに対してであった。

今回樹立した新規抗PDPN抗体LpMab-7は、その抗原認識部位が既存の抗PDPN抗体と異なり、PLAG domainの領域外で、79番目のアルギニンから83番目のロイシンであることが、ELISA法、Western blot (WB) 法、Flow cytometry (FCM) 法より明らかとなった。また、SaOS2、HuO9、U-2 OS、OST、NOS-1の5種類の骨肉腫細胞株に対する反応性を、WB法とFCM法を用いてNZ-1と比較したところ、LpMab-7とNZ-1はU-2 OSにのみ反応した。さらに、この既存の抗PDPN抗体と異なる抗原認識部位をもち、骨肉腫細胞株に対してNZ-1と同等の反応性を持つLpMab-7を用いて、骨肉腫患者から採取した腫瘍組織を免疫組織化学染色 (IHC) すると、LpMab-7はNZ-1よりも高感度であった。また、同一の骨肉腫患者の腫瘍原発巣と肺転移巣に対するIHCの比較検討では、4症例中3症例で原発巣よりも肺転移巣でPDPNの強発現が認められた。

これらの結果より、新規の抗PDPN抗体LpMab-7は、IHCにおいて既存の抗体よりも高感度に骨肉腫腫瘍のPDPNを染色し、さらに肺転移巣のPDPNの発現を原発巣よりも強く染色することから、肺転移を来した骨肉腫症例に対する新たな分子標的治療薬として期待される。

(以上 1162 字)

平成 29 年 1 月 19 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学 位 論 文 審 査 結 果 報 告 書

申請者氏名 : 大木 弘治

論文題目 : Establishment of high-specific anti-podoplanin mAb and analysis of podoplanin expression in osteosarcoma (高感度抗ポドプラニン抗体の樹立と骨肉腫におけるポドプラニン発現の検討)

審査委員 : 主審査委員 山川 光徳



副審査委員 本郷 誠治



副審査委員 高木 理彰



審査終了日 : 平成 28 年 1 月 16 日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

骨肉腫は、骨に原発する最も一般的な悪性腫瘍で、転移或いは再発により非常に予後不良となる。ここ 20 年間でも予後改善につながる有力な研究はなされていない。それは、骨肉腫が発生起源と臨床症状がかなり多様であることによる。骨肉腫の発生には、人種、性別、年齢、多種の遺伝子変異、環境暴露などが関与するとされているが、発症要因は未だに不明である。非侵襲的な診断法として血中 alkaline phosphatase 値の評価や種々の画像診断法はあるが、今なお、生検による病理診断が確定診断と治療法の選択や予後推測に必須である。また、新たな分子標的治療の開発が望まれている。

Podoplanin を認識する抗体である D2-40 は、上皮型中皮腫、セミノーマ、血管芽腫、シェワソ細胞腫、Kaposi 肉腫、血管内皮細胞腫などの診断に頻用され、加えて、非腫瘍性のリンパ管内皮細胞を認識することから種々の癌腫のリンパ管侵襲の同定にも活用される。

著者は、新規に樹立した抗体 (LpMab-7) の抗原認識部位の同定と、5 種類の骨肉腫細胞株と骨肉腫の摘出組織における反応性を、既存の podoplanin 抗体と比較検討した。その結果、LpMab-7 は、1) 既存の抗体と異なる抗原認識部位を持つ、2) 5 種類の細胞株のうち U-2OS にのみ反応する、3) 骨肉腫の摘出組織では高感度で腫瘍細胞を認識する、4) 原発巣よりも肺転移巣で強発現しやすいことを確認した。以上より、LpMab-7 は、既存の抗体よりも高感度で骨肉腫細胞を認識でき、肺転移を来した症例に対する新たな分子標的治療薬として期待されると結論された。

本研究には重要な新知見が含まれており、こられの結論を導き出す過程についても熟慮され、結果に対する十分な考察もなされていた。本研究で得られた成果は、骨肉腫の病理診断や転移巣の治療戦略に有用な情報を与えるものである。本審査委員会では、全員一致して、博士 (医学) 論文にふさわしいものと判断し、合格とした。

(1,200 字以内)