



TITLE:

Suppression of malignant rhabdoid tumors through Chb-M'-mediated RUNX1 inhibition(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Daifu, Tomoo

CITATION:

Daifu, Tomoo. Suppression of malignant rhabdoid tumors through Chb-M'-mediated RUNX1 inhibition. 京都大学, 2022, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2022-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.r13480>

RIGHT:

京都大学	博士（医学）	氏名	大封智雄
論文題目	Suppression of malignant rhabdoid tumors through Chb-M' -mediated RUNX1 inhibition (Chb-M' を介した RUNX1 阻害は悪性ラブドイド腫瘍の増殖を抑制する)		
(論文内容の要旨)			
<p>【背景】 悪性ラブドイド腫瘍 (Malignant Rhabdoid tumor; MRT) は、主に乳幼少期に体のあらゆる部位から発生する悪性腫瘍である。外科療法、多剤併用化学療法と造血細胞移植を併用した大量化学療法、放射線療法を組み合わせた集学的治療が行われているにも関わらず長期生存率は 30%未満であり、現状では標準治療は確立していない。MRT の遺伝学的特徴は、SWI/SNF 複合体の主要な構成要素の一つである SMARCB1 (INI1) の欠失であるが、SWI/SNF 複合体と RUNX1 は相互作用することが報告されている。本研究では、RUNX core DNA consensus シーケンス に特異的に結合する pyrrole imidazole polyamide (PI-P) に、アルキル化剤である Chlorambucil (Chb) を結合した新規 RUNX 阻害剤 (Chb-M') の MRT に対する腫瘍抑制効果について検討した。</p> <p>【方法】 in vitro 実験系として 3 種類のヒト MRT 細胞株を用いて、Chb-M' による細胞増殖抑制効果を検討し IC50 を測定した。また、各細胞株に対して、siRNA による RUNX1 遺伝子発現の抑制が細胞増殖能に与える影響についてトリパンプルーによる細胞増殖アッセイにて検討した。続いて、RUNX1 阻害による腫瘍抑制効果とアポトーシスとの関連を調べるため、Chb-M' 投与後のアポトーシス細胞の割合をフローサイトメトリーを用いて測定し、アポトーシス関連蛋白をウェスタンブロッティング法により解析した。in vivo 実験系として NOD/Shi-scid, IL-2Rγ KO (NOG) マウスに MRT 細胞株を皮下移植した後に Chb-M' (320μg/kg) を週 2 回静脈内投与し、経時的な腫瘍サイズの変化を検討し、摘出した腫瘍を用いて腫瘍増殖能やアポトーシスについて病理組織学的に解析した。</p> <p>【結果】 Chb-M' によりヒト MRT 細胞株の有意な細胞増殖抑制を認めた。また、siRNA による RUNX1 遺伝子発現の抑制により、細胞増殖能は著明に低下した。Chb-M' 投与後に Annexin V 陽性、7-ADD 陰性早期アポトーシス細胞が増加し、p53 経路の活性化によるアポトーシスの亢進が主たる原因であることが確認された。さらに、Chb-M' を投与した NOG マウスでは著明な腫瘍形成抑制効果を認め、重大な有害事象は確認されなかった。摘出した腫瘍の病理学的評価により、Chb-M' 投与群において、Ki-67 陽性細胞の減少、TUNEL 陽性細胞の増加を認め、生体内におけるアポトーシスの亢進による細胞増殖低下が起こることを確認した。</p> <p>【結語】 Chb-M' 投与による RUNX1 阻害により、p53 経路の活性化によるアポトーシスを介して MRT の細胞増殖が有意に抑制されたため、RUNX1 が MRT の治療標的となる可能性が示唆された。Chb-M' の腫瘍抑制効果と、MRT の遺伝的特徴である SWI/SNF 複合体との関係は本研究では明らかにはなっておらず、今後の検討が必要である。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

悪性ラブドイド腫瘍 (Malignant Rhabdoid tumor; MRT) は、主に乳幼少期に体のあらゆる部位から発生する悪性腫瘍である。外科療法、多剤併用化学療法と造血細胞移植を併用した大量化学療法、放射線療法を組み合わせた集学的治療が行われているにも関わらず長期生存率は 30%未満であり、現状では標準治療は確立していない。

本研究では、新規 RUNX 阻害剤 (Chb-M') の MRT に対する腫瘍抑制効果について検討している。in vitro 実験系として 3 種類のヒト MRT 細胞株を用いて、Chb-M' による細胞増殖抑制効果を示し、また siRNA による RUNX1 遺伝子発現の抑制により、細胞増殖能は著明に低下することが示された。さらにその機序として、Chb-M' 投与後にはアポトーシス細胞が増加し、p53 経路の活性化が主たる要因であることが示された。同様の結果が、in vivo 実験系として NOD/Shi-scid, IL-2R γ KO (NOG) マウスに MRT 細胞株を皮下移植した後に Chb-M' を投与する系でも示している。

以上の研究は、治療に難渋する MRT に対して、RUNX が新たな治療ターゲットになる可能性を示唆しており、臨床応用を進めていく橋渡しとなる前臨床研究として評価されるものである。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和 3 年 7 月 16 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降