

氏名	こう まさき 高 正圭
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	富生命博甲第123号
学位授与年月日	令和2年3月24日
専攻名	認知・情動脳科学専攻
学位授与の要件	富山大学学位規則第3条第3項該当
学位論文題目	T-LAK Cell-Originated Protein Kinase (TOPK) inhibitor induces tumors suppression of the growth in xenograft models of human gliom (悪性神経膠腫皮下腫瘍モデルにおける TOPK 阻害剤の腫瘍増大抑制に関する検討)
論文審査委員	
(主査)	教授 佐藤 勉
(副査)	教授 笹原 正清
(副査)	教授 折笠 秀樹
(副査)	教授 林 龍二
指導教員	教授 黒田 敏

T-LAK Cell-Originated Protein Kinase (TOPK) inhibitor induces tumor suppression of the growth in xenograft models of human glioma

悪性神経膠腫皮下腫瘍モデルにおけるTOPK阻害剤の腫瘍増大抑制
に関する検討

2019年度

生命融合科学教育部 博士課程 認知・情動脳科学専攻

学籍番号 31481003

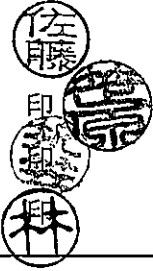
高 正圭

〔目的〕 T-LAK cell-originated protein kinase (TOPK)はp38MAPKをリン酸化するMAPKキナーゼであり、in vitroにおいて神経前駆細胞では細胞周期依存性に活性化される。TOPKは、精巣や胎児組織以外では正常組織に発現していないものの、数多くの悪性腫瘍に発現し、その予後と相関していることが報告されている。我々のグループは以前にTOPKの発現量と生命予後に相関があること、TOPK阻害剤 (OTS964)が悪性神経膠腫の細胞株の増殖を抑制することを報告した。今回我々の目的は悪性神経膠腫皮下腫瘍モデルを用いてin vivoにおけるOTS964の腫瘍増大抑制効果を明らかにすることである。

〔方法並びに成績〕 U87悪性神経膠腫細胞を右大腿部に皮下注射し皮下腫瘍モデルを作成した。腫瘍容積が200 mm³に達したモデルに対してOTS964を経口投与することとした。投与群は(1) vehicle群(n=6)、(2) OTS964 25 mg/kg 群(n=6)、(3) OTS964 50 mg/kg 群(n= 10)の3群に分け14日間連日投与した。投与終了後、14日間の観察期間を設け、その後組織学的検討を行うため犠死させ組織を採取した。投与期間中のOTS964における腫瘍への影響を検討すべく、新たにOTS964 25mg/kg (n=3)を設定し、7日間連日投与し、投与後に犠死させ組織を採取した。OTS964投与終了時点においてvehicle群は531.1±155.6 %の腫瘍増大をきたした一方で、OTS964 25 mg/kg群と50 mg/kg群はそれぞれ304.6±76.5 %、および225.4±50.4 %でそれぞれ有意に腫瘍増大抑制効果を発揮していた ($P<0.01$)。OTS964投与終了後、各群とも腫瘍は増大するものの、投与終了14日目においてもOTS964 50 mg/kg群はvehicle群に比べ有意に腫瘍増大が抑制されていた ($P<0.01$)。免疫組織学的検討の結果、リン酸化TOPK陽性率はvehicle 5.7±0.7 %、OTS964 25 mg/kg 3.4±0.7 %、OTS964 50 mg/kg群 2.6±1.1 %で、OTS964により自己リン酸化が有意に抑制されていた ($P<0.01$)。リン酸化Histone H3陽性率はvehicle 4.5±1.0 %、OTS964 25 mg/kg 3.2±0.5 %、OTS964 50 mg/kg群 2.4±0.7 %で自己リン酸化と同様有意にリン酸化が抑制されていた($P<0.01$)。Ki-67陽性率はvehicle 53.9±2.6 %、OTS964 25 mg/kg 40.6±4.6 %、OTS964 50 mg/kg群 35.4±1.9 %でOTS964により腫瘍増殖能が有意に抑制されていた。アポトーシス発現変化に関して、OTS964投与期間中犠死させ組織を採取した群はCleaved caspase-3陽性率は1.1±0.3%で他の群よりその発現率が有意に高くOTS964投与中に腫瘍のアポトーシス誘導を確認した ($P<0.01$)。

〔総括〕 本研究で、ヒト悪性神経膠腫皮下腫瘍モデルにおいて新規TOPK阻害剤OTS964が腫瘍増大抑制効果を発揮したことを示した。また、免疫組織学的検討により、OTS964はリン酸化・自己リン酸化を抑制し、腫瘍増殖能を抑制していたことを示した。投与期間中、OTS964は腫瘍をアポトーシスに誘導し、腫瘍増大抑制効果を発揮していた。悪性神経膠腫の新たな治療オプションになり得る可能性が示唆された。

学 位 論 文 審 査 の 要 旨

報 告 番 号	富生命博甲第 号 富生命博乙第 号	氏 名	高 正 圭
論文審査委員	職 名 (主査) 教授 (副査) 教授 (副査) 教授 (副査) 教授	氏 名 佐藤 勉 笹原正清 折笠秀樹 林 龍二	
指導 (紹介) 教員	教授	黒田 敏	
(論文題目) T-LAK Cell-Originated Protein Kinase (TOPK) inhibitor induces tumor suppression of the growth in xenograft models of human glioma (悪性神経膠腫皮下腫瘍モデルにおけるTOPK阻害剤の腫瘍増大抑制に関する検討)		(判定)	合格
<p>(論文審査の要旨)</p> <p>【目的】</p> <p>T-LAK cell-originated protein kinase (TOPK)はp38MAPKをリン酸化するMAPKキナーゼであり、<i>in vitro</i> において神経前駆細胞では細胞周期依存性に活性化される。TOPKは、精巣や胎児組織以外では正常組織に発現していないものの、数多くの悪性腫瘍に発現し、その予後と相関していることが報告されている。高君が所属する研究グループは以前に悪性神経膠腫症例ではTOPKの発現量と生命予後に相関があること、TOPK阻害剤 (OTS964) が悪性神経膠腫の細胞株の<i>in vitro</i> における増殖を抑制することを報告した。そこで、高君は悪性神経膠腫皮下腫瘍モデルを用いて<i>in vivo</i> におけるOTS964の腫瘍増大抑制効果を明らかにすることを目的として本研究を実施した。</p> <p>【方法並びに成績】</p> <p>ヒト由来U87悪性神経膠腫細胞をヌードマウスの右大腿部に皮下注射し皮下腫瘍モデルを作成した。腫瘍容積が200 mm³に達したモデルに対してOTS964を経口投与することとした。投与群は(1) vehicle群(n=6)、(2) OTS964 25 mg/kg 群(n=6)、(3) OTS964 50 mg/kg 群(n=10)の3群に分け14日間連日投与した。投与終了後、14日間の観察期間を設け、</p>			

その後組織学的検討を行うため犠死させ組織を採取した。投与期間中のOTS964における腫瘍への影響を検討すべく、新たにOTS964 25mg/kg (n=3)を設定し、7日間連日投与し、投与後に犠死させ組織を採取した。OTS964投与終了時点においてvehicle群は531.1±155.6 %の腫瘍増大をきたした一方で、OTS964 25 mg/kg群と50 mg/kg群はそれぞれ304.6±76.5 %, および225.4±50.4 %であり、それぞれ有意に腫瘍増大抑制効果を発揮していた (P<0.01)。OTS964投与終了後、各群とも腫瘍は増大するものの、投与終了14日目においてもOTS964 50 mg/kg群はvehicle群に比べ有意に腫瘍増大が抑制されていた (P<0.01)。免疫組織学的検討の結果、リン酸化TOPK陽性率はvehicle 5.7±0.7 %, OTS964 25 mg/kg 3.4±0.7 %, OTS964 50 mg/kg群 2.6±1.1 %で、OTS964により自己リン酸化が有意に抑制されていた (P<0.01)。リン酸化Histone H3陽性率はvehicle 4.5±1.0 %, OTS964 25 mg/kg 3.2±0.5 %, OTS964 50 mg/kg群 2.4±0.7 %で自己リン酸化と同様有意にリン酸化が抑制されていた (P<0.01)。Ki-67陽性率はvehicle 53.9±2.6 %, OTS964 25 mg/kg 40.6±4.6 %, OTS964 50 mg/kg群 35.4±1.9 %でOTS964により腫瘍増殖能が有意に抑制されていた。アポトーシス発現変化に関して、OTS964投与期間中犠死させ組織を採取した群はCleaved caspase-3陽性率は1.1±0.3%で他の群よりその発現率が有意に高くOTS964投与中に腫瘍のアポトーシス誘導を確認した (P<0.01)。

【総括】

本研究で、ヒト悪性神経膠腫皮下腫瘍モデルにおいて新規TOPK阻害剤OTS964が腫瘍増大抑制効果を発揮したことを示した。また、免疫組織学的検討により、OTS964はリン酸化を抑制し、腫瘍増殖能を抑制していたことを示した。投与期間中、OTS964は腫瘍をアポトーシスに誘導し、腫瘍増大抑制効果を発揮していた。悪性神経膠腫の新たな治療オプションになり得る可能性が示唆された。

以上のことから、ヒト悪性神経膠腫皮下腫瘍モデルにおいて新規TOPK阻害剤OTS964が有効であることを明らかにした点は新規性があり、そのメカニズムがミトコンドリアを介したアポトーシス誘導であることを示した点は医学における学術的重要性も高く、TOPK阻害剤が治療オプションとなりうる可能性が示されたことから臨床的発展性が期待できる。

以上より本審査会は本論文を博士（医学）の学位に十分値すると判断した。