

氏 名	こ の か ひ 河 野 勝 彦
学位の種類	博 士 (医 学)
学位記番号	論 医 博 第 1860 号
学位授与の日付	平 成 16 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	In vitro growth suppression of human glioma cells by a 16-mer oligopeptide: a potential new treatment modality for malignant glioma (16-mer オリゴペプチドによるヒトグリオーマ細胞株の増殖抑制：悪性グリオーマの新しい治療法の可能性について)
論文調査委員	(主 査) 教 授 藤 田 潤 教 授 井 手 千 東 教 授 橋 本 信 夫

論 文 内 容 の 要 旨

fibroblast growth factor-2 (FGF-2) は正常細胞のみならず腫瘍細胞において autocrine および paracrine growth factor として作用していると考えられている。human glioma においても、mRNA とタンパク質のレベルで FGF-2 の増加が認められ、またその発現量と悪性度との相関も報告されている。さらに FGF-2 の中和抗体は human glioma に apoptosis を誘導し増殖を抑制する。これらの事実は、glioma 由来の FGF-2 が autocrine growth factor として自身の腫瘍性増殖に関与し、その autocrine loop の遮断が細胞死をもたらすことにより抗腫瘍効果が期待できることを示唆している。Cosic らは 16 アミノ酸からなる FGF-2 受容体結合部位に構造的に類似した antagonist を作成した。本研究ではこの antagonist の受容体との結合力、human glioma cell line の増殖の抑制、細胞死の機序、数種類の抗癌剤との併用効果等について検討し、glioma に対する治療手段としての有用性を評価・検討した。antagonist は MWYRPDLDERKZZKRE の 16 アミノ酸から作成し、control peptide として酸性極鎖であるグルタミン酸 (E) を非極性極鎖であるグリシン (G) に変えたもの MWYRPDLGGRKZZKRE を作成した。この antagonist が実際に受容体レベルで競合阻害するかどうかを BIAcore assay 法で検討したところ、FGF-2 とほぼ同レベルの濃度で FGFR1 に対して競合阻害を呈することが証明された。次に human glioma cell line に対する殺細胞効果を MTT assay 法を用いて検討した。U251MG, U87MG, T98G の 3 種類の glioma cell line はいずれも antagonist の濃度依存性に増殖の抑制が認められたのに対し、FGF-2 非依存性の増殖をすることが知られている A431 (human epidermoid carcinoma) では、control peptide との間に有意な差を認めなかった。同様に time course study においても、3 種類の human glioma cell line は 48 から 72 時間で増殖抑制を受けた。antagonist を U251MG に作用させ蛍光染色を行うと核濃縮、断片化などの apoptosis の形態を呈した。さらに U251MG に、antagonist とともに caspase inhibitor を作用させると、前述した増殖抑制効果が消失した。CDDP, VP-16, ACNU の 3 種類の抗癌剤と antagonist を併用すると、control と比べて 20 から 25% の殺細胞効果の増強が認められた。

以上の結果より、この antagonist は FGFR1 を拮抗阻害し、apoptosis pathway を介して腫瘍増殖を抑制し、抗癌剤との併用によりその作用を増強することが証明された。また、glioma の増殖には FGFR1 を介した autocrine 機構が存在し、過剰発現した FGF-2 が apoptosis を抑制していることが、細胞の腫瘍化の一因と考えられた。FGFR1 の発現の多い腫瘍に対しては、現在使用されている抗癌剤にこの antagonist を併用することにより、adjuvant therapy となる可能性が示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

ヒト膠芽腫は、細胞が産生した塩基性線維芽細胞増殖因子 (FGF-2) が、細胞表面に発現した線維芽細胞増殖因子受容体 1 (FGFR1) に結合する自己分泌作用により増殖する。オリゴペプチドは構造・機能相関を解析することにより、分子標的に対し自由にアミノ酸配列を構築できるという利点を持つ。オリゴペプチドによる FGF-2 自己分泌回路の遮断が、新たなヒト膠芽腫の治療手段たり得るかどうかを検討した。

オリゴペプチドはMWYRPDLDERKZZKREの16アミノ酸から作成した。このオリゴペプチドはBIAcore法により、FGFR1に対してFGF-2とほぼ同濃度で競合阻害することが示された。オリゴペプチドは3種類のヒト膠芽腫細胞に対し濃度依存性の増殖抑制効果を示した。オリゴペプチドはヒト膠芽腫細胞にアポトーシスを誘導し、カスパーゼ阻害剤はその増殖抑制効果を消失させた。オリゴペプチドと3種類の抗癌剤（ニムスチン、エトポシド、シスプラチン）を併用すると、殺細胞効果の相加作用が認められた。

以上により、このオリゴペプチドはヒト膠芽腫細胞においてFGFR1を拮抗阻害して自己分泌回路を遮断し、アポトーシスを誘導して腫瘍増殖を抑制することが示唆された。また、現在使用されている抗癌剤の補助療法となる可能性が示唆された。

以上の研究は膠芽腫の分子標的療法の開発に貢献し、新たな脳腫瘍の治療に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値のあるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成16年3月8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。