

## 論文審査の要旨

報告番号	総研第 541 号	学位申請者	中島 隆之
審査委員	主査	河野 嘉文	学位 博士 (医学・歯学・学術)
	副査	中川 昌之	副査 古川 龍彦
	副査	宮田 篤郎	副査 山口 宗一

**Tranilast enhances the effect of anticancer agents in osteosarcoma**  
**(Tranilast は骨肉腫の抗がん剤の効果を増強する)**

骨肉腫は高濃度の Methotrexate、Doxorubicin、Cisplatin など治療されているが、20-30%は治癒できておらず、20年以上新規治療薬の承認はない。そのため、新規治療法の開発が重要である。今回学位申請者らは抗アレルギー薬として開発された副作用が少ない Tranilast が抗がん剤の効果を増強するかを検討した。4種の骨肉腫細胞株 (HOS、143B、U2OS、MG63) と正常線維芽細胞 (WI-38) を使用し、Tranilast 単独投与の作用効果について MST-1 試薬を用いて細胞増殖の評価を行った。Tranilast と Doxorubicin、Cisplatin との相互作用も同様に MST-1 試薬を用いて細胞増殖の評価を行い、Cisplatin との併用での相乗効果の有無は Chou-Talalay の方法で Combination Index を算出して評価し、フローサイトメトリーにて細胞周期、アポトーシスを評価した。細胞周期チェックポイント関連分子、アポトーシス関連分子の評価を Western blotting で行った。143B 移植ヌードマウスに Tranilast と Cisplatin を投与し腫瘍増大抑制効果と副作用の出現について評価した。

その結果、本研究で以下の知見が明らかにされた。

- 1) Tranilast は濃度依存性に骨肉腫細胞株の増殖を正常線維芽細胞より有意に低い濃度で増殖を抑制した。
- 2) Tranilast は骨肉腫細胞株に対し、Doxorubicin、Cisplatin の抗腫瘍効果を増強した。特に Cisplatin との併用での抗腫瘍効果は Chou-Talalay の方法で算出した Combination Index から、効果領域で相乗効果であることが判明した。
- 3) Cisplatin の骨肉腫細胞株のアポトーシス誘導作用は、Tranilast で増強されることを確認した。この時、DNA 障害マーカーであるリン酸化 H2Ax、アポトーシス関連分子である cleaved caspase3、cleaved PARP の増加が観察された。
- 4) MG63 を除く骨肉腫細胞株で、Tranilast は単独で p21、BIM の蛋白発現を濃度依存的に増強した。
- 5) 骨肉腫細胞株において、Tranilast は細胞周期チェックポイント制御関連分子である ATR、CHK1、wee1 を活性化し、Cisplatin の G2/M 期の細胞周期停止を増強した。
- 6) 143B 細胞を用いた Xenograft model で Tranilast 単独投与群および Cisplatin 単独投与群はコントロール群と比較し有意な腫瘍増大抑制効果を認めなかったが、両者併用群では対照群と比較して有意な腫瘍増大抑制効果を認めた。また、Cisplatin 単独投与群と両者併用群との比較では、副作用としての体重減少に有意差を認めなかった。

本研究は骨肉腫細胞株に対し、Tranilast による、抗がん剤の効果増強を証明したはじめての報告である。Tranilast は現在市販されている副作用が少ない薬剤であり、抗がん薬の効果を増強し G2/M 期停止、アポトーシス誘導が増強することから、今後の同剤の臨床応用を考慮するうえで非常に興味深い。よって本研究は学位論文として十分な価値が有するものと判定した。