

学 位 論 文 要 旨

研究題目

Sodium Valproate Enhances Semaphorin 3A-mediated Anti-angiogenesis and Tumor Growth Inhibition in Human Osteosarcoma Cells

(バルプロ酸はヒト骨肉腫細胞においてセマフォリン 3A を介して抗血管新生作用と腫瘍成長の抑制を増強する)

兵庫医科大学大学院医学研究科

医科学専攻

高次神経制御系

整形外科学 (指導教授 橘 俊哉)

氏 名 澤井 龍生

背景/目的: セマフォリン 3 クラス (Class 3 semaphorins) には、セマフォリン 3A (SEMA3A) を含む、内因性の血管新生阻害因子が知られており、内皮細胞の移動と増殖に関連しており、多くのがん細胞で同定されている。SEMA3A は VEGF と競合することにより腫瘍の血管新生を抑制するが、腫瘍は活発な血管新生を有することが知られており、SEMA3A およびその受容体の発現がエピジェネティックに抑制されている可能性がある。この状態を克服するために、ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) 阻害剤を使用して、骨肉腫 (OS) 細胞で SEMA3A の発現を増強し、血管新生を抑制し増殖と転移を阻害することを目的とした。

材料と方法: OS 細胞系およびヒト微小血管内皮 (HMVE) 細胞は、バルプロ酸 (VPA) およびトリコスタチン A (TSA) などの HDAC 阻害剤で処理した。SEMA3A の発現およびそれに関連する受容体の mRNA およびタンパク質レベル、および腫瘍血管新生への抑制効果を調べた。

結果: HDAC 阻害剤である VPA および TSA は、OS 細胞で SEMA3A およびその関連受容体である NRP1 の発現を増加させたが、PLXNA1 は誘導しなかった。同様に、HMVE 細胞で SEMA3A および NRP1 の発現が増加したが、HMVE 細胞自体の成長抑制は認めなかった。さらに、VPA によって誘導された OS 細胞培養液中の SEMA3A は、HMVE 細胞の血管管腔形成を抑制し、SEMA3A の過剰発現は OS 細胞の成長抑制を増強した。SEMA3A によるこの成長抑制効果は、OS 細胞で G1/S 細胞周期の停止を誘導した。

結論: HDAC 阻害剤である VPA と TSA が、ヒストンのアセチル化を介して SEMA3A およびその受容体 NRP1 または PLXNA1 の発現を増加させることが示唆された。さらに、OS 細胞培地内の VPA 処理による SEMA3A は、HMVE 細胞における VPA 処理単独よりも管腔形成を抑制する可能性が示唆された。

SEMA3A cDNA 発現ベクターをトランスフェクトした SEMA3A 過剰発現は、OS 細胞の増殖を強く阻害したことから、SEMA3A の誘導は OS 細胞の G1/S 期細胞周期停止による増殖抑制をもたらすことが示された。HDAC 阻害剤は、SEMA3A/ NRP1 / PLXNA1 オートクラインだけでなくパラクライン経路で抗血管新生効果および抗腫瘍活性を有する可能性がある。