

## 博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名	山岸 哲郎
学位	博士 (医学)
学位記番号	新大院博 (医) 第757号
学位授与の日付	平成29年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
博士論文名	Receptor-activator of nuclear kappa B ligand expression as a new therapeutic target in primary bone tumors. (原発性骨腫瘍における新たな治療標的としてのRANKL発現)
論文審査委員	主査 教授 佐藤 昇 副査 教授 松田 健 副査 教授 遠藤 直人

### 博士論文の要旨

#### 【背景と目的】

骨芽細胞や間質細胞が分泌する receptor-activator of nuclear kappa B ligand (RANKL)は破骨細胞前駆細胞表面の receptor-activator of nuclear kappa B (RANK)と結合することで破骨細胞分化を促進させ、骨成長や骨代謝に重要な役割を果たしている。しかし、RANKL が過剰になると破骨細胞による正常の骨吸収が進み、骨が破壊される。Osteoprotegerin (OPG)はRANKLに対するおとり受容体であり、破骨細胞分化を抑制している。デノスマブはヒト型抗 RANKL モノクローナル抗体であり、RANKL を介した破骨細胞の分化を抑制し、それにつづく骨吸収を抑制する。多発性骨髄腫、固形がんの骨転移、骨巨細胞腫などの溶骨をきたす疾患に適応となっている。近年、破骨細胞型巨細胞を有するいくつかの溶骨性骨腫瘍においては、免疫染色で RANKL 発現が確認され、デノスマブの治療効果も報告されている。一方、そのような骨腫瘍における RANKL 発現を定量的に測定した報告はない。申請者はリアルタイム PCR と免疫組織化学染色を用いて、様々な組織型の原発性骨腫瘍における RANKL 発現を分析した。

#### 【方法】

対象は2007-2014年までに治療した原発性骨腫瘍135例。組織型は骨巨細胞腫18例、軟骨肉腫17例、骨肉腫16例、骨軟骨腫12例、線維性骨異形成10例、内軟骨腫9例、Ewing肉腫8例、動脈瘤様骨嚢腫8例、脊索腫4例、単純性骨嚢腫3例、類骨骨腫2例、骨線維性異形成2例、骨平滑筋肉腫2例、多発性骨髄腫3例、転移性骨腫瘍15例、その他それぞれ1例ずつであった。手術検体よりRNAを抽出し、RANKL、RANK、OPG発現量をリアルタイムPCRで定量的に測定した。多発性骨髄腫細胞株RPMI8226におけるそれぞれの発現量を基準として用いた。各遺伝子発現は各組織の中央値で比較した。統計解析にはPost-hoc多重比較を用いた。また、OPGに対するRANKLの比(RANKL/OPG)は溶骨性病変の活動性を示すとされ、本研究でも各組織における値を比較した。

#### 【結果】

RANKL 発現は骨巨細胞腫、軟骨肉腫、内軟骨腫、骨軟骨腫、線維性骨異形成、動脈瘤様骨嚢腫において高

値を認めた。中間値(最小-最大)は骨巨細胞腫 346(74.3-6930)、軟骨肉腫 348(12.2-2623)、内軟骨腫 237(94.8-1180)、骨軟骨腫 368(17.8-2973)、線維性骨異形成 452(186-3737)、動脈瘤様骨嚢腫 227(35.7-1618)であった。各中間値に統計学的有意差は認めなかった。骨平滑筋肉腫は2例中1例で747と高値を示すものもあった。

RANKL/OPGは骨巨細胞腫で3.85と高値を示し、転移性骨腫瘍0.04や多発性骨髄腫0.19と比較し高かったものの、統計学的有意差は認めなかった。また、骨平滑筋肉腫の1例においても8.50と高値を示した。また、66例に対してRANKLの免疫組織化学染色を施行し、骨巨細胞腫5例、線維性骨異形成1例において陽性であった。転移性骨腫瘍や多発性骨髄腫では陽性症例はなかった。

#### 【考察】

RANKL発現とRANKL/OPGはすべての組織型の中では骨巨細胞腫で最も高いことから、デノスマブの良い適応であることが示された。また、RANKL, RANKL/OPGの高値を示した骨平滑筋肉腫の症例は鎖骨原発の骨平滑筋肉腫であり、多発骨転移を伴っていたためデノスマブの適応と考えた。その結果、投与開始より原発巣における骨硬化像と疼痛症状の改善を認めた。

このことはRANKL/OPGはデノスマブの治療効果を予想する指標となりうることを示している。諸家の報告では動脈瘤様骨嚢腫や線維性骨異形成においても免疫染色でRANKL発現を認め、デノスマブが効果的であった症例も報告されている。これらの組織は破骨細胞型巨細胞を認めるもので、本研究でも比較的高いRANKL発現があり、デノスマブの有効性を支持する結果となった。また、軟骨肉腫、内軟骨腫、骨軟骨腫などの軟骨系腫瘍においてもRANKL発現が認められたが、そのメカニズムはまだわかっていない。RANKL発現は正常骨組織の代謝において非常に重要な役割を果たしていることから、骨腫瘍における骨代謝を解明するうえでもRANKLの発現量を評価することは重要である。本研究結果より、高発現を認めたいくつかの原発性骨腫瘍はデノスマブの新たな治療標的となる可能性があると考えられる。

#### 審査結果の要旨

骨芽細胞や間質細胞が分泌するreceptor-activator of nuclear kappa B ligand (RANKL)は破骨細胞分化を促進させる作用を有し、RANKLに対するおとり受容体であるOsteoprotegerin (OPG)によって破骨細胞分化は抑制され、両者により骨代謝は制御されている。一部の溶骨性骨腫瘍においてRANKL発現が認められており、ヒト型抗RANKLモノクローナル抗体であるデノスマブが溶骨性骨腫瘍をきたす疾患に使用されているが、溶骨性骨腫瘍におけるRANKL発現を定量的に測定した報告はない。申請者はリアルタイムPCRと免疫組織化学染色を用いて、様々な組織型の原発性骨腫瘍におけるRANKL発現を調査した。その結果、RANKL発現は骨巨細胞腫、軟骨肉腫、内軟骨腫、骨軟骨腫、線維性骨異形成、動脈瘤様骨嚢腫において高値を認め、RANKL/OPGは骨巨細胞腫で高値であった。また鎖骨原発の骨平滑筋肉腫1症例において両者の高値を認め、デノスマブ投与により原発巣における骨硬化像と疼痛症状の改善を認めた。これらのことからRANKL発現とRANKL/OPGは原発性骨腫瘍におけるデノスマブの適応とその効果を予測する指標となることが示唆された。

以上により、RANKL発現およびRANKL/OPG値で高値を示す原発性骨腫瘍がデノスマブの治療標的となることを示した点に学位論文としての価値を認める。