

[課程—2]

審査の結果の要旨

氏名 田口 瑠奈

本研究はリンパ管内皮細胞及び、腎臓がん細胞における TGF- β シグナルの機能を検討した。本研究により下記の結果を得ている。

リンパ管形成における TGF- β ファミリーシグナルの機能解析

1. リンパ管内皮細胞では TGF- β 2 刺激により Smad2 がリン酸化され、*SERPINE1* ならびに *SMAD7* の発現が誘導された。これらの反応は ALK-5 を knockdown すると解除された。リンパ管内皮細胞が TGF- β シグナルを伝達するには ALK-5 が必要であることが示唆された。
2. リンパ管内皮細胞は TGF- β 2 刺激により、Prox1 の発現が抑制され、細胞の増殖が抑制された。ALK-5 を knockdown すると、TGF- β 2 による Prox1 の発現低下ならびに細胞増殖の抑制が解除された。リンパ管内皮細胞では TGF- β 2 が ALK-5 を介して Prox1 発現を制御し、細胞増殖を抑制していることが示唆された。
3. リンパ管内皮細胞では BMP-9 刺激により Smad1/5 がリン酸化され、*ID1* ならびに *SMAD7* の発現が誘導された。これらの反応は ALK-1 を knockdown すると解除された。一方で ALK-2 を knockdown した際には部分的に解除されるにとどまった。リンパ管内皮細胞が BMP-9 シグナルを伝達するには ALK-1 が重要であることが示唆された。
4. リンパ管内皮細胞は BMP-9 刺激により、Prox1 の発現が抑制され、細胞の増殖が抑制された。ALK-1 を knockdown すると、BMP-9 による Prox1 の発現低下ならびに細胞増殖の抑制が解除された。リンパ管内皮細胞では BMP-9 が ALK-1 を介して Prox1 発現を制御し、細胞増殖を抑制していることが示唆された。

腎臓がんの進展における TGF- β ファミリーシグナルの機能解析

5. 腎細胞がん組織で TGF- β シグナル伝達因子の発現に一定の傾向がないか、データベースを用いた解析した。この結果、受容体や Smad に特定の傾向はみられなかったが、TGF- β ファミリーシグナルを負に制御する転写共役因子である c-Ski の発現が、正常腎組織に比べて淡明細胞型腎癌組織で亢進していることが明らかとなった。臨床検体に対する免疫組織化学染色からも、淡明細胞型腎細胞癌中のがん細胞では c-Ski の発現が亢進していることが再現された。腎細胞がん細胞では c-Ski の発現亢進が、がんの進展に関与していると示唆された。

6. 腎細胞がん細胞における **c-Ski** の機能を調べるために、腎細胞がん細胞 **Caki-1** に **c-Ski** を安定発現させた株を樹立し、腫瘍形成能を評価した。腎皮膜下移植では、コントロールの細胞を移植したマウスと比べて **c-Ski** 安定発現細胞を移植したマウスで有意に腫瘍形成が亢進していることがわかった。腎細胞がんでは **c-Ski** が腫瘍形成に寄与していることが示唆された。
7. 腎細胞がん細胞の **TGF- β** シグナルを阻害することが腫瘍形成に寄与しているか確認するために、腎細胞がん細胞 **Caki-1** ならびに **OS-RC-2** に **TGF- β** シグナル伝達を阻害する変異受容体を安定発現させた株を樹立し、腫瘍形成能を評価した。腎皮膜下移植では、コントロールの細胞を移植したマウスと比べて変異体安定発現細胞を移植したマウスで有意に腫瘍形成が亢進していることがわかった。一方で、腎細胞がん細胞の **BMP** シグナルを阻害することが腫瘍形成に寄与しているか確認するために、**OS-RC-2** 細胞に **BMP** のアンタゴニストである **Noggin** を安定発現させた株を樹立し、腫瘍形成能を評価したが、**Noggin** の発現は腫瘍形成に変化をもたらさなかった。腎細胞がんの進展において、**TGF- β** は腫瘍抑制因子として作用しているが、腎細胞がん細胞では **c-Ski** の発現が亢進しており、これにより **TGF- β** シグナルが阻害されることが腎細胞がんの進展には重要なのではないかと推測された。
8. **TGF- β** の腎細胞がん細胞の増殖に対する作用を調べたところ、**TGF- β** 刺激により腎細胞がん細胞の増殖が抑制されることが観察された。また、腎細胞がん細胞に **TGF- β** 刺激をすることで **subG0**, **G1** 期に属する細胞の割合が増加し、**PARP** の分解が促進されたことから、**TGF- β** による腎細胞がんの腫瘍形成抑制にはアポトーシス誘導が関与していると示唆された。

以上、本論文では **TGF- β** ファミリーシグナルがリンパ管内皮細胞の増殖を抑制し、腎細胞がんの腫瘍形成を抑制することを明らかにした。今後は、リンパ管内皮細胞や腎細胞がん細胞における **TGF- β** ファミリーシグナルの標的遺伝子を検索するなど、より詳細な研究を進めることが、がんに対する新薬の開発につながる可能性があると考えられ、学位の授与に値するものと考えられた。