

京都大学	博士（医学）	氏名	彭瑾
論文題目	The BMP signaling pathway leads to enhanced proliferation in serous ovarian cancer—A potential therapeutic target (BMP シグナル伝達経路は卵巣漿液性腺癌の細胞増殖を促進させ、新規治療標的となりうる)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>卵巣癌は婦人科悪性腫瘍の中で最も死亡数が多い予後不良の疾患である。その中で漿液性腺癌は最も頻度が高い組織型であり、増殖が速く、診断時には III, IV 期に進行していることが多い。化学療法がいったんは奏功することが多いが、ほとんどの症例で再発し最終的には化学療法が無効になるため、新たな分子標的の探索が望まれている。</p> <p>骨形成タンパク質 (BMP) は SMAD タンパク質を介したシグナル伝達により器官形成や細胞分化、増殖に関与する。また前立腺癌、悪性黒色腫、胃癌、軟骨肉腫、膀胱癌において BMP シグナル伝達経路がその浸潤と転移と関与することが報告されているが、卵巣癌における働きは知られていない。本研究では卵巣漿液性腺癌の臨床サンプルにおける BMP や SMAD5 の発現と予後の関連を検討した。また卵巣癌細胞株における BMP シグナル経路の役割を検討した。</p> <p>まず卵巣漿液性腺癌組織の発現マイクロアレイデータ (GSE3149) を解析し、予後不良症例の組織には SMAD5 の発現が高いことを見出した。さらに SMAD5 の発現は増殖マーカーである MKI67 の発現と正の相関を示した。一方、SMAD1,9 は MKI67 との相関を認めなかった。またレセプターである BMPR は 1A, 1B, 2 いずれも MKI67 との正の相関を認めた。種々の卵巣癌細胞株において BMP2 および BMPR の mRNA の発現を認めたが、不死化卵巣表層上皮細胞株 (IOSE) では BMP2 の mRNA の発現はほとんどなく、BMPR の mRNA の発現も有意に低かった。さらに、卵巣漿液性腺癌の臨床検体の免疫組織染色では、核内のリン酸化 SMAD5 (pSMAD5) の発現量が高いグループは低いグループと比較して有意に予後不良であった。</p> <p>卵巣癌細胞株を用いて細胞全体に発現する pSMAD5 タンパク量をウェスタンブロット法により測定したところ、リコンビナント BMP2 (rBMP2) 投与下では pSMAD5 の発現は亢進し、1 型 BMP レセプターのキナーゼ阻害剤 Dorsomorphin (DM) 投与下では抑制された。次に細胞質内と核内のそれぞれの pSMAD5 タンパク量を測定した。卵巣癌細胞株の核内の pSMAD5 は rBMP2 投与下で発現が亢進し、その程度は IOSE よりも顕著であった。免疫蛍光染色においても、IOSE では rBMP2 や DM 投与により核内 pSMAD5 タンパク質発現量は変化しなかったが、卵巣癌細胞株では rBMP2 により核内 pSMAD5 の発現が亢進し DM により抑制された。また発現亢進の局在は Ki67 発現と一致していた。</p> <p>rBMP2 および DM 投与下での細胞周期解析を行ったところ、卵巣癌細胞株は rBMP2 投与により G1 期から S 期への移行が促進され、DM 投与により抑制された。一方 IOSE では rBMP も DM も細胞周期の分布に変化を生じなかった。SMAD5 をノックダウンした卵巣癌細胞株に rBMP2 および DM を添加して細胞増殖を解析したところ増殖は促進も抑制もされなかった。以上より卵巣癌細胞では BMP シグナル伝達経路の活性化により pSMAD5 の細胞質内から核内への移行が促進され、増殖が促進されることが明らかとなった。</p> <p>最後にヌードマウスに卵巣癌細胞株を皮下投与したところ、rBMP2 投与下では腫瘍増殖が促進され DM 投与下では抑制された。</p> <p>本研究により、卵巣漿液性腺癌において、BMP2/SMAD5 シグナルは増殖を促進させており、有望な治療標的となりうると考えられた。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

本研究は、卵巣癌の中で最も頻度が高く予後不良の組織型である卵巣漿液性腺癌(SOC)において、骨形成タンパク質(BMP)が果たす役割について検討したものである。

まず SOC 146 例の発現マイクロアレイデータで、SMAD5 mRNA 発現が高い症例は低い症例に比して予後不良であった。また SOC 36 例の免疫組織染色で核内リン酸化 SMAD5 (pSMAD5)の発現量が多い症例は少ない症例に比して予後不良であった。ウエスタンブロット法および免疫蛍光染色による検討で、SOC 細胞株 SKOV3 や OVCA420 における核内の pSMAD5 発現は、リコンビナント BMP2 (rBMP2)投与により亢進し、1 型 BMP レセプターのキナーゼ阻害剤 Dorsomorphin (DM)投与により抑制されたが、不死化卵巣表層上皮細胞では rBMP2 投与により核内 pSMAD5 発現量は変化しなかった。細胞周期解析において、SKOV3 の S 期の比率は rBMP2 投与により増加し DM 投与により減少した。SKOV3 や OVCA420 に rBMP2 を添加すると増殖が促進されたが、SMAD5 をノックダウンすると rBMP2 を添加しても増殖は変化しなかった。ヌードマウスに SKOV3 を皮下接種した実験系で、rBMP2 投与下では腫瘍増殖が促進され DM 投与下では抑制された。結論として、SOC において、BMP/SMAD シグナルは癌細胞の増殖を促し、治療標的として有望であると考えられた。

以上の研究は、卵巣癌の増殖において BMP シグナルが果たす役割の解明に貢献し、卵巣癌に対する新たな治療戦略の開発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あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 27 年 2 月 20 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。

要旨公開可能日： 年 月 日以降