京都大学	博士（医学）	氏　名	山　村　省　吾
論文題目	The activated TGF-beta signaling pathway in peritoneal metastases is a potential therapeutic target in ovarian cancer. （卵巣癌腹膜播種巣において活性化したTGF-betaシグナル伝達経路は卵巣癌治療のターゲットとなりうる）		

（論文内容の要旨）

卵巣癌は早期発見が困難で半数以上の患者がⅢ／Ⅳ期の進行癌の状態で診断されるため、婦人科悪性腫瘍の中で最も死亡数が多く、予後不良である。卵巣癌に特徴的で高頻度に認められる転移経路である腹膜播種は、卵巣癌の予後因子として重要なものの一つであり、その制御を目指して腹膜切除を含む手術療法や腹腔内への抗がん剤投与などさまざまな治療法が試みられてきた。しかしながら、いずれの方法も長期的な成績に関しては未だに十分な成果を上げられていない。一方、基礎分野においても卵巣癌腹膜播種の生物学的機序に関して様々な研究がなされてきた。特に卵巣癌の原発巣と腹膜播種巣の組織を比較し、播種巣に特異的に関与する因子や細胞内シグナルを同定する試みは数多くなされてきたが、これらの研究の多くは比較的少数のサンプルを用いて特定の因子を検討したものであり、多数のサンプルを用いた包括的な検討はなされていない。

本研究では、まず Web 上に公開されているヒト卵巣癌組織の発現マイクロアレイ・データセット（GSE2109）を用い、バイナリー・リグレッション法によって癌進展に関与すると思われる複数のシグナル伝達経路の活性を解析した。その結果、卵巣癌の大網転移巣においては原発巣に比較して TGFβシグナル伝達経路の活性が著明に亢進していることを見出した。そこで次に当該科で初回手術を施行した進行卵巣癌症例の中で原発巣と大網転移巣の組織をペアで得られたものについて、TGFβシグナル伝達経路の主要なタンパクである TGFBR２とリン酸化 SMAD2 の発現を免疫組織化学染色で検討したところ、いずれのタンパクも大網転移巣において原発巣より発現が亢進していた。

さらにマウス卵巣癌細胞株 HM-1 を用いて、リコンビナント TGFβ１、および TGFβ経路阻害作用を持つ TGFβ受容体タイプ１阻害剤である A-83-01 の転移能に対する作用を検討した。まず、TGFβ１で処理した HM-1 細胞の発現マイクロアレイ解析を行い、TGFβ１添加により発現亢進した遺伝子群を抽出し、GSEA（Gene Set Enrichment Analysis）法により解析したところ、これらの遺伝子群はヒト卵巣癌組織のアレイデータセット GSE2109 において、原発巣より大網転移巣で発現亢進していた遺伝子群と有意に相関していることが判明した。すなわち、包括的遺伝子解析からも TGFβシグナルはヒト卵巣癌の転移形質と深く関連することが確認された。そこで次に HM-1 細胞を用いて転移能に対する TGFβ１および A-83-01 作用を in vitro で検討したところ、TGFβ１添加により転移能（遊走能、接着能、浸潤能）はいずれも有意に促進され、逆に A-83-01 により有意に抑制された。さらに HM-1 細胞を C6B3 マウス腹腔内に投与することで卵巣癌腹膜播種モデルを作製し、この腹膜播種モデルマウスに A-83-01 を腹腔内投与して同剤の in vivo での治療効果を検討したところ、全生存期間の有意な延長を認めた。すなわち、TGFβシグナ伝達経路は薄膜播種抑制のための治療ターゲットとなりうることが示された。

本研究はマイクロアレイによる包括的な遺伝子・シグナル解析から卵巣癌転移における TGFβシグナルの重要性を予測し、それを卵巣癌細胞株および動物実験で検証するとともに、そのシグナル阻害が転移抑制を介して治療効果につながる可能性を示したものである。

（論文審査の結果の要旨）

本研究はマイクロアレイによる包括的な遺伝子・シグナル解析から卵巣癌転移における TGFβシグナルの重要性を予測し、それを卵巣癌細胞株および動物実験で検証するとともに、そのシグナル阻害が転移抑制を介して治療効果につながる可能性を示したものである。

Web 上に公開されているヒト卵巣癌組織の発現マイクロアレイ・データセットを用いて、卵巣癌の大網転移巣においては原発巣に比較して TGFβシグナル伝達経路の活性が著明に亢進していることを見出した。次に当該科で初回手術を施行した進行卵巣癌症例の免疫組織学的検討により、TGFβシグナル伝達経路の主要なタンパクである TGFBR2 とリン酸化 SMAD2 の発現が大網転移巣において原発巣より亢進していることを確認した。

さらにマウス卵巣癌細胞株 HM-1 を用いて、リコンビナント TGFβ１および TGFβ経路阻害作用を持つ TGFβ受容体タイプ１阻害剤である A-83-01 の転移能に対する作用を検討した。TGFβ１添加により転移能（遊走能、接着能、浸潤能）はいずれも有意に阻害され、逆に A-83-01 により有意に抑制された。最後に HM-1 細胞を C6B3 マウス腹腔内に投与することで卵巣癌腹膜播種モデルを作製し、この腹膜播種モデルに A-83-01 を腹腔内投与して同剤の in vivo での治療効果を検討したところ、全生存期間の有意な延長を認めた。すなわち TGFβシグナル伝達経路は腹膜播種抑制のための治療ターゲットとなりうることが示された。

以上の研究は、卵巣癌の腹膜播種における TGFβの役割の解明とその阻害による治療可能性の検討に貢献し、婦人科腫瘍学の進歩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２３年１２月１３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