

## [別紙 2]

### 審査の結果の要旨

氏名 山口 博紀

本研究においては、スフィンゴシン 1-リン酸 (以下 S1P) のマウスメラノーマにおける肺転移抑制作用とその機序を解明するため、分子生物学的手法を用いた各実験を行い、以下の結果を得た。

1. 経静脈的肺転移モデルを用い、S1P がメラノーマ細胞の肺転移に与える影響を検討した。S1P  $10^{-7}$  M の前処理により肺転移数は 42%減少した。また、蛍光標識されたメラノーマ細胞を静脈注入し、癌細胞の肺組織分布を検討した。S1P 前処理により、静脈注入 10 分後に、肺微小血管に捕捉された細胞数は 32%減少した。

2. B16 F10 を用い、Edg1, Edg3, Edg5 受容体の各受容体安定発現細胞を作製し、S1P が、各受容体を介し肺転移、細胞遊走、細胞増殖にどのような影響を与えるかを検討した。この結果、S1P は Edg5 を介して肺転移、細胞遊走、細胞増殖を抑制することが確認された。これとは逆に S1P は Edg1, Edg3 を介して肺転移と細胞遊走を促進する可能性が示された。

3. S1P は Edg1, Edg3 を介して低分子量 G タンパク質 Rac の活性化を亢進し、Edg5 を介して抑制することが確認された。優性不活性型 Rac をアデノウイルスによって B16F10 に発現させると肺転移、細胞遊走、細胞増殖は有意に抑制された。したがって S1P のもつ肺転移、細胞遊走、細胞増殖の各抑制作用は Edg5 を介して Rac 活性化を抑制することによるものであることが強く示唆された。

以上、本論文は S1P のもつ癌転移抑制作用を明らかにし、さらにその機序として Edg 受容体と Rac 活性が深く関与することを示した。新たな分子生物学的なアプローチが必要とされてる癌血行性転移の治療において、本研究は今後重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。