

[課程—2]

審査の結果の要旨

氏名 勝野 蓉子

本研究は種々の癌におけるTGF- β ファミリーシグナルの役割を明らかにすることを目的とし、乳癌の骨転移におけるBMPシグナルの役割と、スキルス胃癌幹細胞の維持におけるTGF- β シグナルの役割について、解析を行ったものであり、下記の結果を得ている。

1) 乳癌の骨転移におけるBMPシグナルの役割

骨転移した乳癌症例の原発腫瘍、骨転移およびリンパ節転移の組織を用いた免疫染色を行った結果、乳癌の原発腫瘍組織、骨転移組織およびリンパ節転移組織において、腫瘍細胞で核にリン酸化 Smad2 とリン酸化 Smad1/5/8 の染色が見られ、乳癌細胞において TGF- β 、BMP シグナルが活性化されていることが示された。骨転移組織において特に強いリン酸化 Smad2 およびリン酸化 Smad1/5/8 の染色が見られ、骨転移した乳癌細胞が骨基質に存在する TGF- β および BMP による刺激を受けている可能性が示唆された。

ヒト乳癌細胞株 MDA-MB-231 から得られた高い骨転移能を持つクローンである MDA-231-D 細胞のヌードマウス左心室への移植による実験転移モデルの骨転移組織においても癌細胞で Smad2 と Smad1/5/8 がリン酸化されていることを免疫染色と Western blot により確認した。この転移モデルにおいて、*in vivo imaging* を用いて、骨転移巣における TGF- β あるいは BMP 依存的な転写活性と腫瘍の増殖を同一個体で経時的に可視化する系を確立した。この *in vivo imaging* の系を用いることで、骨転移した乳癌細胞で TGF- β あるいは BMP に誘導される Smad 依存的転写が活性化されていることを明らかにした。

乳癌細胞の運動能と浸潤能に対する TGF- β と BMP の効果を wound-closure assay と invasion assay により検討した結果、TGF- β 同様、BMP は *in vitro* で MDA-231-D 細胞の運動能と浸潤能を亢進させた。

ドミナントネガティブレセプターにより TGF- β と BMP のシグナルを阻害することにより、MDA-231-D 細胞の *in vitro* での浸潤能が抑制された。さらに、マウスへの移植モデルにおいて、ドミナントネガティブレセプターを発現させて TGF- β あるいは BMP のシグナルを阻害した細胞では、骨転移が抑制され、移植マウスの生存時間が延長した。

2) スキルス胃癌幹細胞の維持におけるTGF- β シグナルの役割

Borrmann IV 型胃癌と診断された症例の腫瘍から得られた一連の細胞株を用いて ALDH1 発現を比較した結果、ALDH1 は、この患者の原発腫瘍から得られた細胞を同所移植したマウスの転移組織から得られた細胞株である OCUM-2MD3 細胞と OCUM-2MLN 細胞において

高い発現が見られた。

スキルス胃癌細胞株において、ALDH1+細胞は、ALDH1-細胞に比較して *in vitro* での増殖が速く、寒天中でのコロニー形成能が高かった。ALDH1+細胞は、ALDH1-細胞に比較して、高い腫瘍形成能を示した。ALDH1+細胞によって形成された腫瘍は、ソートする前の細胞と同様に ALDH1-、ALDH1+の両方の細胞を含んでおり、ALDH1+細胞が自己複製能を有することが示唆された。

TGF- β は、スキルス胃癌細胞株において、ALDH1 の mRNA とタンパクの発現を減少させ、ALDH1+細胞の割合を減少させた。

以上、本論文は、TGF- β シグナル同様、BMP シグナルも乳癌の骨転移を促進し、TGF- β または BMP のシグナルを阻害することで骨転移を抑制できる可能性があることと、ALDH1 がスキルス胃癌幹細胞の重要なマーカーの1つと考えられ、TGF- β がスキルス胃癌幹細胞の数を減少させる可能性があることを明らかにした。本研究は、癌の進行における TGF- β シグナルの複雑な役割の解明に貢献する重要な発見であると考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。