

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士 (医学)	氏名	重松 慶紀
学位授与の条件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論文題目 Overexpression of the transmembrane protein BST-2 induces Akt and Erk phosphorylation in bladder cancer (膀胱癌における膜貫通型蛋白質 BST-2 の高発現は Akt と Erk のリン酸化を誘導する)			
論文審査担当者			
主査	教授	浅野 知一郎	印
審査委員	教授	今泉 和則	
審査委員	准教授	亭島 淳	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>膀胱癌の中でも筋層浸潤性膀胱癌 (muscular-invasive bladder cancer: MIBC) は予後不良であるが、現在有効な治療標的分子はほとんど明らかとなっておらず、その開発は急務である。一方、細胞表面蛋白質・分泌蛋白質は癌のマーカー・治療標的分子として有用とされている。分子病理学研究室では細胞表面蛋白質・分泌蛋白質をコードする遺伝子の同定に適した CAST (Escherichia coli ampicillin secretion trap)法を用いて、胃癌細胞株において高発現している遺伝子として <i>BST2</i> を同定した。<i>BST2</i> は II 型膜貫通型蛋白質である Bone Marrow Stromal Cell Antigen 2 (BST-2) をコードする遺伝子である。以前の当該研究室の検討では、<i>BST2</i> 遺伝子は胃癌組織において高発現し、<i>BST2</i> を阻害することで胃癌細胞株の増殖が抑制されることを明らかにしており、新規治療標的となる可能性が示唆されている。<i>BST-2</i> の高発現は、胃癌の他、多発性骨髄腫、腫瘍性 B 細胞、卵巣癌、乳癌、子宮内膜癌、肺癌などでも見いだされており、多発性骨髄腫マウスモデルを用いた解析では、抗 <i>BST-2</i> モノクローナル抗体により腫瘍縮小効果と予後の改善が得られたと報告されている。このような <i>BST-2</i> モノクローナル抗体による抗体依存性細胞障害は、幅広いヒト悪性腫瘍で見られる可能性がある。しかし、<i>BST-2</i> の膀胱癌における発現とその意義については、これまで全く検討されていない。そこで本研究では、膀胱癌における <i>BST-2</i> の発現と臨床病理学的因子との関連を検討し、その機能について膀胱癌細胞株を用いて解析した。</p> <p>14 種類のヒト全身正常臓器および膀胱癌組織 8 例を材料に、定量的 RT-PCR で <i>BST2</i> の発現を検討したところ、正常臓器では肺、胃、骨髄、肝臓において <i>BST2</i> の発現が高かったが、膀胱癌組織ではさらに高い発現レベルが認められた。そこで、広島大学病院で 2003 年 4 月か</p>			

ら 2007 年 3 月までに施行された膀胱全摘除症例の膀胱癌組織ホルマリン固定パラフィン包埋切片を材料に免疫染色を施行したところ、非腫瘍部粘膜では BST-2 の発現はほとんど認められなかったが、69 例中 28 例 (41%)において膀胱癌細胞の主に細胞膜に BST-2 の発現が認められた。BST-2 の発現と臨床病理学的因子との関連を検討したところ、T grade に関しては、Ta/is/1 症例と比較し T2/3/4 (MIBC) 症例で有意な相関が認められた ($p<0.001$)。免疫染色の結果を用いて BST-2 の発現と予後との関連を検討したところ、BST-2 陽性例と陰性例では有意な予後の差は認められなかった ($p=0.460$)。

次に、BST-2 の膀胱癌における機能を明らかにするため細胞株を用いた検討を行った。膀胱癌細胞株 T24 と KMBC2 を用いて Western blot 法で BST-2 の発現を検討したところ、T24 では高レベル、KMBC2 では低レベルであった。そこで、T24 に対して siRNA を用いて BST-2 のノックダウンを行い、MTT assay で増殖能を評価した。その結果、negative control と比較して BST-2 をノックダウンしたもので、増殖能が有意に抑制された。KMBC2 に対しては、BST2 発現ベクターを導入し BST-2 を過剰発現させた状態で、同様に増殖能を検討した。BST2 発現ベクター導入株では control に比べて増殖能が有意に亢進した。以上のことから BST-2 は腫瘍増殖に促進的に機能することが明らかとなった。

BST-2 が癌の増殖に関与する分子機構を知るために、ERK-MAPK 経路、PI3K-AKT 経路との関連を Western blot 法を用いて検討した。BST-2 をノックダウンすることで negative control と比較し ERK 及び AKT のリン酸化が抑制され、BST2 を強制発現することで control と比較し ERK 及び AKT のリン酸化が亢進した。BST-2 はこれらの経路を利用して癌の増殖に関与している可能性が考えられた。

以上の結果から、BST-2 は膀胱癌において高発現し特に筋層浸潤と有意に相関すること、BST-2 は膀胱癌の増殖に促進的に機能し ERK-MAPK および PI3K-AKT 経路を活性化することが明らかとなった。本研究は、BST-2 が癌に特異性が高い細胞表面膜蛋白質であり、膀胱癌において有用な治療標的分子となり得ることを示した点で高く評価される。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。

最終試験の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 （ 医 学 ）	氏名	重松 慶紀
学位授与の条件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目 Overexpression of the transmembrane protein BST-2 induces Akt and Erk phosphorylation in bladder cancer (膀胱癌における膜貫通型蛋白質 BST-2 の高発現は Akt と Erk のリン酸化を誘導する)			
最終試験担当者			
主 査	教 授	浅 野 知 一 郎	印
審査委員	教 授	今 泉 和 則	
審査委員	准教授	亭 島 淳	
〔最終試験の結果の要旨〕			
判 定 合 格			
上記3名の審査委員会委員全員が出席のうえ、平成30年8月2日の第75回広島大学研究科発表会（医学）及び平成30年7月31日の本委員会において最終試験を行い、主として次の試問を行った。			
1 BST-2 と化学療法感受性、免疫細胞制御との関連			
2 BST-2 の分子構造と相互作用する分子			
3 抗体依存性細胞障害のメカニズム			
4 Escherichia coli ampicillin secretion trap 法の原理			
5 ERK および AKT と他のシグナル伝達系との関連			
これらに対して極めて適切な回答をなし、本委員会が本人の学位申請論文の内容及び関係事項に関する本人の学識について試験した結果、全員一致していずれも学位を授与するに必要な学識を有するものと認めた。			