

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（歯学）	氏名	SHRESTHA MADHU
学位授与の条件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目			
<p>The transition of tissue inhibitor of metalloproteinases from TIMP-4 to TIMP-1 induces aggressive behavior and poor patient survival in dedifferentiated liposarcoma via YAP/TAZ activation (TIMP-4 から TIMP-1 への発現移行は YAP/TAZ 活性化を介して脱分化脂肪肉腫における侵襲性や低生存率を誘導する)</p>			
論文審査担当者			
主査	教授	加藤 功一	印
審査委員	教授	安井 弥	
審査委員	教授	吉子 裕二	
〔論文審査の要旨〕			
<p>脂肪肉腫（LS）は，すべての軟部組織腫瘍の15～20%を占める最も一般的な軟部組織悪性腫瘍である。高分化型脂肪肉腫（WDLS）は成熟脂肪細胞によく似ており，脱分化型脂肪肉腫（DDL）は，WDLSにDDLの領域を伴うものである。DDLは侵襲性であり，WDLSよりも予後不良で生存率が低い。現行のLS治療法はDDLにはあまり効果的でなく，新規治療法の開発が必要とされる。Hippo経路は，mammalian STE20-like protein kinases 1/2 (MST1/2)，large tumor suppressor homologue 1/2 (LATS1/2)などの一連のキナーゼからなり，SAV1やMOB1A/Bと複合体を形成している。Yes-associated protein/transcriptional coactivator with PDZ-binding motif (YAP/TAZ)は，Hippoシグナル伝達経路のエフェクターであり，主にTEAD (TEA domain family member)の共転写因子として機能する。活性化されるとLATS1/2キナーゼはYAP/TAZをリン酸化し，ユビキチン-プロテアソーム分解を介して，細胞質局在化および分解を引き起こす。また，YAP/TAZはDDLを含む様々な悪性腫瘍において，その標的遺伝子（CTGF，CYR61など）を介して異常な細胞増殖，遊走およびアポトーシスを引き起こす癌タンパク質としても知られる。よって，YAP/TAZ活性化を調節する分子メカニズムを理解することで，LSの新たな治療戦略を確立できる可能性がある。Tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP)は，メタロプロテナーゼの内因性阻害剤であり，TIMP-1～4の4種類がある。TIMP-1は，乳癌，膵臓癌，胃癌，結腸癌，脳腫瘍，前立腺癌などにおける予後不良症例で高い発現を示すとされる。近年，著者らの研究室ではTIMP-1が受容体であるCD63およびIntegrinβ1と複合体を形成し，様々な腫瘍においてYAP/TAZを活性化させることを明らかにした。そこで，本研究では，LSにおいてもTIMP-4がYAP/TAZ経路に関与するのではないかと考え，LSにおけるTIMP-1お</p>			

よび TIMP-4 の YAP/TAZ 制御機構を解明することを目的とした。

1：TIMP-1 は DDSL で、TIMP-4 は WDSL でそれぞれ高発現している

GSE30929 (Prognoscan) および Gobble Sarcoma (Oncomine) データベースを用い TIMP-1/TIMP-4 の発現と患者の生存率と予後との関係について調べた結果、予後良好な WDSL では TIMP-4 の発現が高く、遠隔転移の多い予後不良な DDSL では TIMP-1 の発現が高いことが明らかになった。脂肪肉腫の細胞株においても、高分化型 94T778 細胞では TIMP-4 の発現が高く、YAP/TAZ は不活性化しており、脱分化型の SW872 および FU-DDLS 細胞では TIMP-1 の発現が高く YAP/TAZ は活性化していた。

2：TIMP-1 は YAP/TAZ の活性化を介して細胞増殖能や遊走能を促進する

DDL S 細胞 (SW872, FU-DDLS 細胞) で TIMP-1 の発現を抑制すると、YAP/TAZ の抑制と T1079 のリン酸化を伴う LATS1 の増加が起こり、細胞増殖能、遊走能が低下し、アポトーシスは増加した。一方、WDSL 細胞 (94T778 細胞) に TIMP-1 を強制発現すると、逆に YAP/TAZ は活性化し、増殖能、遊走能の亢進とアポトーシスの抑制が起こった。なお、Verteporfin (YAP/TAZ 抑制剤) は TIMP-1 を強制発現細胞の増殖能、遊走能を抑制した。

3：TIMP-4 は YAP/TAZ を不活性化し、WDSL 細胞の増殖能や遊走能を抑制する

WDSL 細胞 (94T778 細胞) に TIMP-4 の発現を抑制すると、YAP/TAZ の活性化とともに増殖能、遊走能が亢進した。DDL S 細胞 (SW872, FU-DDLS 細胞) に TIMP-4 を強制発現すると YAP/TAZ が不活性化し、増殖能、遊走能が低下した。

4：合成 TIMP-4 (rTIMP-4) は YAP/TAZ の不活性化を介して DDSL の侵襲性を減じる

DDL S 細胞 (SW872, FU-DDLS 細胞) を rTIMP-4 で処理すると S127 で YAP のリン酸化が起こり、細胞増殖能と遊走能の抑制が誘導された。さらに、SW872 細胞では、YAP の標的遺伝子発現が減少した。

5: LS 患者症例における TIMP-1 と TIMP-4 免疫局在は脂肪肉腫の分化段階と関係する

WDSL と DDL S 患者症例の組織材料を用い TIMP-1 と TIMP-4 の免疫局在を検討した結果、TIMP-1 は免疫組織化学的に DDL S 症例において高発現し、WDSL 症例の発現は低いことが明らかとなった。一方、TIMP-4 は WDSL 症例で発現が高く、DDL S 症例では低発現であった。

以上の結果から、TIMP-1 は YAP/TAZ を活性化することで、細胞の増殖・遊走能を亢進させ、予後不良に導くことを明らかにした。本研究は TIMP-4/TIMP-1 が制御する YAP/TAZ シグナル経路を標的とした新しい脂肪肉腫の診断・治療法開発のための基礎的なデータを提供し、口腔病理学ならびに関連歯科医学の発展に寄与するところが大きいと高く評価される。

よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士 (歯学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。