

## 学位審査結果報告書

学位申請者氏名 水田 奏

学位論文題目 Plectin promotes tumor formation by B16 mouse melanoma cells via regulation of Rous sarcoma oncogene activity

審査委員 (主査氏名) 有吉 渉 (署名) 有吉 渉

(副査氏名) 竹内 弘 (署名) 竹内 弘

(副査氏名) 豊野 孝 (署名) 豊野 孝

### 学位審査結果の要旨

皮膚や粘膜に発症する悪性腫瘍である悪性黒色腫は、その増殖の早さや予後、さらに治療による QOL の大きな低下が臨床上、問題視されている。そのため、悪性黒色腫に対する詳細な病態解明と新たな治療法の確立が求められている。水田氏が研究に従事する研究室では、細胞骨格タンパク質である plectin ががん遺伝子である Rous sarcoma oncogene (Src) の活性の調節を介して、さまざまな細胞機能を制御することを、破骨細胞を中心に明らかにしている。plectin は、悪性黒色腫を含む多くのがん細胞で発現が亢進していることから、本研究では、悪性黒色腫における Src の活性化や腫瘍形成における plectin の機能について、多面的な解析を行っている。

マウス悪性黒色腫細胞株 B16 に対し、CRISPR/Cas9 システムを用いて、plectin 遺伝子の欠損株 (PKO) を作製した。PKO 細胞では、PYK2 のリン酸化や Src と PYK2 との相互作用がコントロール細胞と比べて低下しており、plectin の欠失が、悪性黒色腫細胞における Src シグナリングを負に制御することが示された。また、ヌードマウスの背部皮下に PKO 細胞を接種したところ、腫瘍密度の減少と疎な細胞間隙が観察された。In vitro の解析結果では、PKO 細胞は野生型に比較して、経時的な生細胞数の増加が低下し、細胞増殖マーカーである cyclin D1 の発現量も減少していた。さらに、PKO 細胞では、細胞外基質タンパク質であるフィブロネクチンに対する接着細胞数の減少や、スフェロイド培養系における凝集能の低下、さらに dispase 処理後の機械的刺激による細胞塊に分断化の亢進など、細胞接着の抑制も観察された。この PKO 細胞における細胞増殖能や細胞接着能の低下は、恒常活性型 Src の遺伝子導入により、回復することが示された。以上の結果から、plectin が Src シグナルの活性化の調節を介した細胞増殖や細胞接着の制御により、悪性黒色腫の病態形成に関与している可能性が示唆された。

本研究内容について申請者の水田氏に対し、実験の手技や結果の解釈、将来的な研究の展望などについて主査と2名の副査による諮問を行い、適切な回答を得た。本研究成果は、悪性黒色腫の病態形成メカニズムの新たな知見を見出したもので、この制御による疾患の治療法開発に寄与することが期待されることから、審査委員会では本論文を学位論文として価値あるものと判断した。