

氏名(本籍) 岡 大五 (岡山県)

学位の種類 博士(医学)

学位授与番号 甲第641号

学位授与日付 平成29年3月17日

学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当

学位論文題目 Sphingosine-1-phosphate receptor 1 expression in angiosarcoma :  
Possible role in metastasis and a potential therapeutic target

審査委員 教授 大槻 剛巳 教授 岡 三喜男 教授 中田 昌男

#### 論文の内容の要旨・論文審査の結果の報告

論文は、リンパ球や血管内皮細胞の細胞移動に関連している Sphingosine-1-phosphate (S1P) の5つの受容体のうちの receptor 1 (S1PR1) に着目し、高率な転移と有効な治療法のない血管内皮由来の悪性腫瘍である血管肉腫(高齢者の皮膚に好発)での細胞生物学的な役割と、その阻害による転移抑制について、すでに多発性硬化症の治療薬として臨床応用されている S1PR1 の機能的阻害剤である FTY720 およびそのリン酸化物である FTY720-P を利用して検討した内容である。

免疫組織学的に S1PR1 の発現を血管肉腫やその転移巣で確認した上で、ヒト血管肉腫細胞株である MO-LAS を用いて、免疫組織化学・ウェスタンブロット、qRT-PCR 法にて当該細胞株での S1PR1 の発現を確認した上で、S1PR1 を siRNA 法によってサイレンスした状態あるいは FTY720 と FTY720-P を用いた阻害実験にて、細胞遊走、細胞走化性の検討を実施した。

結果として、サイレンスによって走化性の抑制、また機能的アンタゴニストによって血清誘導性の走化性の亢進の抑制、さらには機能的アンタゴニストによる時間依存的な内在化が認められた。

また本細胞株では発現が乏しい S1PR2 のアンタゴニスト (JTE013) の投与は、効果がほとんど見られなかったこと、そして、FTY720-P 添加にて STAT3 のリン酸化の軽度の抑制も観察された。

これらの結果より、申請者は、少なくとも MO-LAS という細胞株において S1P/S1PR1 シグナルが血管肉腫の細胞移動に重要な役割を担っていること、遊走や走化性は、S1PR1 のサイレンスや機能的アンタゴニストの投与で抑制され、特にアンタゴニスト添加時には、内在化がこの抑制の主たる機序であろうと考察し、このシグナルが今後の治療標的になる可能性を指摘した。

ただし、STAT3 のリン酸化の機序や臨床での投与では、薬剤濃度と S1PR1 を従来高発現している

リンパ球の減少などの adverse effect の関係から、課題も多く残っている点なども、沈着に判断していた。

本研究は、医科学分野において重要な知見を有する内容であり、学位論文として過不足ないと評価されるべき内容である。

### 学位審査会（最終試験）の結果の要旨

学位審査会において、申請者は学位論文の内容を、その背景から方法、そして結果とその解釈について適切なプレゼンテーションを行い、本研究に関連する考察も加えて過不足ない提示を行った。

審査委員より、(1) siRNA 後の遊走能の測定において、S1P 添加に比して、血清添加の場合の抑制の度合いが軽度であること、(2) 機能的アンタゴニストを投与した場合の走化性の低下が有意差はあるものの顕著でないこと、(3) p-STAT3<sup>tyr705</sup> の抑制が観察された理由と、p-STAT3<sup>tyr705</sup> のウェスタンブロットでのバンドの読解、(4) S1PR2 阻害剤を用いた場合の走化性への影響の認められなかった原因、(5) 使用した細胞株における 5 つの S1P 受容体発現を検討した qRT-PCR での陽性対照の設置、(6) 実験濃度におけるアポトーシスやネクロトーシスの誘導が生じなかった点といった実験の手技や結果の妥当性、さらにはその解釈に対する質問が投げられ、個々の質疑に対して申請者は、文献的な背景や本研究テーマを含めた周辺関連領域の知識を駆使して回答と説明を加え、いずれも本研究が内包する問題点であるが、研究の経緯の中で、十分な考察を加えた上で対応してきたことを理解させる返答であった。

また、実際の考察で加えられている治療標的として血管肉腫に対して S1PR1 を候補とする点についても、濃度の問題、drug delivery の問題、実際に現在、機能的アンタゴニストが多発性硬化症の治療に用いられている中での adverse effects の問題、さらには転移の抑制のみによる抗がん治療の限界などについて質問が挙げられたが、これについても研究内容を逸脱することなく、しかし、本研究で明らかになった部分と、まだ解決していかなければならない部分を明確に弃えた上での説明が加えられた。

最終試験は、申請者が大学院の間、真摯に研究テーマに対峙し、自らの手で研究を遂行し、結果を提示、その考察を行い、医科学として確実な新規の知見を明らかにしたことが十分に理解できる内容であった。