

学位授与番号：甲 9 9 5 号

氏 名：山口 乃里子

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 27 年 9 月 9 日

学位論文名：

DYRK2 は卵巣漿液性腺癌において Snail の分解を介し上皮間葉転換及び抗癌剤感受性を制御する

主論文名：

DYRK2 regulates epithelial- mesenchymal-transition and chemosensitivity through Snail degradation in ovarian serous adenocarcinoma.

(DYRK2 は卵巣漿液性腺癌において Snail の分解を介し上皮間葉転換及び抗癌剤感受性を制御する)

学位審査委員長：教授 大橋十也

学位審査委員：教授 山田 尚 教授 相羽恵介

# 論文要旨

(2部提出)

論文提出者名	山口 乃里子	指導教授名	岡本 愛光
<p>主論文題名</p> <p><b>DYRK2 regulates epithelial-mesenchymal-transition and chemosensitivity through Snail degradation in ovarian serous adenocarcinoma</b> (DYRK2は卵巣漿液性腺癌に於いてSnailの分解を介し上皮間葉転換及び抗癌剤感受性を制御する)</p> <p>Noriko Yamaguchi, Rei Mimoto, Nozomu Yanaihara, Yoshimi Imawari, Shinichi Hirooka, Aikou Okamoto and Kiyotsugu Yoshida</p> <p>Tumor Biology : in press</p> <p>DYRK2は様々な基質をリン酸化し、ユビキチンプロテアソーム系にて分解を促進する酵素であり、一般に癌の進行に抑制的に働くタンパク質である。我々は過去にDYRK2が、乳癌で上皮間葉転換(Epithelial-mesenchymal-transition, EMT)に関与する転写因子であるSnailの分解を制御し、癌の浸潤、転移を抑制していることを報告した。卵巣漿液性腺癌でも浸潤や転移の過程にEMTが起こるのはよく知られたことであるが、加えてその関連因子であるSnailの発現が化学療法抵抗性にも関与していると言われている。本研究では卵巣漿液性腺癌細胞株よりDYRK2をノックダウンしたStable cell lineを作成し、Snailの発現及び、浸潤能や薬剤感受性がどの程度変化するかをin vitroにて証明し、動物実験、臨床検体を用いた統計学的検討にて裏付けを行った。その結果、DYRK2がSnailを介しEMT及び薬剤感受性を制御していることを証明した。</p>			

## 論文審査の結果の要旨

山口乃里子氏の学位申請論文は主論文 1 編からなり、タイトルは「DYRK2 regulates epithelial-mesenchymal-transition and chemosensitivity through Snail degradation in ovarian serous adenocarcinoma」、日本語では「DYRK2 は卵巣漿液性腺癌に於いて Snail の分解を介し上皮間葉転換及び抗癌剤感受性を制御する」と題され、2015 年に Tumor Biology 誌に発表予定である。同誌のインパクトファクターは 2014 年で 3.611 である。以下、学位申請論文の要旨と審査委員会における審査結果を記載する。

DYRK2 は様々な基質をリン酸化し、ユビキチンプロテアソーム系にて分解を促進する酵素であり、一般に癌の進行に抑制的に働くタンパク質である。山口氏が所属した部署では過去に DYRK2 が、乳癌で上皮間葉転換 (Epithelial-mesenchymal-transition, EMT) に関与する転写因子である Snail の分解を制御し、癌の浸潤、転移を抑制していることを報告した。今回の研究の新規性は同様のメカニズムが卵巣漿液性腺癌でも起きていることを証明したことにある。卵巣漿液性腺癌でも浸潤や転移の過程に EMT が起こるのはよく知られたことであるが、加えてその関連因子である Snail の発現が化学療法抵抗性にも関与していると言われている。本研究では卵巣漿液性腺癌細胞株より DYRK2 をノックダウンした Stable cell line を作成し、Snail の発現及び、浸潤能や薬剤感受性がどの程度変化するかを *in vitro* にて証明し、動物実験、臨床検体を用いた統計学的検討にて裏付けを行った。その結果、DYRK2 が Snail を介し EMT 及び薬剤感受性を制御していることを証明した。

平成 27 年 8 月 1 日、山田尚、相羽恵介両審査委員出席のもとに公開学位審査会を開催し、山口氏による研究概要の発表に続いて、口頭試験を実施した。試験では以下のような質問があった。

(1) ヒト卵巣漿液性腺がんの細胞株 2008 は上皮性である根拠、例えばサイトケラチンの発現はどうだったか？ (2) E-カドヘリンはマトリックス、例えばタイプ II コラーゲンなどに対する接着性はないのか？ (3) 2008 と 2008 shDYRK2 の網羅的遺伝子発現の比較はしたか？ (4) DYRK2 により snail 1 がユビキチン化されるとしたが、直接 snail 1 のユビキチン化を証明したか？ (5) シスプラチン抵抗性になるメカニズムは何か？ (6) 細胞接着はシスプラチン抵抗性になることに直接関与するのか？ (7) IC50 が数倍になっただけで抗癌剤抵抗性になったと言えるか？ (8) 抗癌剤抵抗性になったら、どれくらい癌細胞の増殖能が変わるか？ シスプラチン以外の抗癌剤には耐性になったか？ (9) 間葉化するだけでシスプラチンに抵抗性になるのか？ (10) *In vivo* の実験で投与したシスプラチンの量は適切か？ (11) DYRK2 をノックダウンして E-カドヘリンの発現が減少した細胞は転移先でも E-カドヘリンの発現は少ないままか？ (12) DYRK2 をノックダウンすることによりエピジェネティックな変化はなかったか？ (13) DYRK2 を発現させることで癌の治療みは結びつかないか？ (14) DYRK2 の変異のあるような癌細胞はないのか？  
これらの質問に対して、山口氏は適切に回答し、有用な議論がなされた。

その後、山田、相羽両教授と慎重に審議した結果、DYRK2 が卵巣卵巣漿液性腺癌でも、薬剤抵抗性、転移などに関与していることを明らかにした重要な論文であり、学位を授与するに値する研究であると結論した。