

西 葉月 氏の学位論文審査の要旨

論文題目

悪性黒色腫における High Molecular Weight Melanoma-Associated Antigen の病理学的検討と、悪性黒色腫細胞株における JNK のアイソフォーム特異的な細胞活性の検討

(The expression of human high molecular weight melanoma-associated antigen in malignant melanoma, and the role of JNK isoforms in the cellular activity of melanoma cell lines)

悪性黒色腫（メラノーマ）はメラノサイト系細胞の悪性腫瘍である。High Molecular Weight Melanoma-Associated Antigen (HMW-MAA) は、膜結合型の Chondroitin Sulfate Proteoglycan であるが、申請者らは、ホルマリン固定パラフィン切片を用いて、末端黒子型黒色腫と表在拡大型黒色腫の HMW-MAA の発現を比較検討した。また、メラノーマの分子生物学的側面より、mitogen-activated protein (MAP) キナーゼ経路の一つである c-Jun N-terminal kinase (JNK) のシグナル特異的阻害剤やアイソフォーム特異的 small interfering RNA (siRNA) を用いて、メラノーマ細胞株における JNK の発現、リン酸化を調べ、アイソフォーム特異的な JNK の増殖、遊走、浸潤に果たす役割を調べた。

HMW-MAA の発現に関しては、95 例の末端黒子型黒色腫と、13 例の表在拡大型黒色腫のホルマリン固定標本を用いてタイラマイドシグナル増感法により免疫染色を行った。メラノーマ細胞株における JNK の発現と機能解析に関しては、ヒトメラノーマ細胞である SK-MEL3、SK-MEL-28、WM164 において、免疫ブロット法を用いて JNK、リン酸化 JNK の発現を調べた。さらに、SK-MEL3、SK-MEL-28 を用いて、JNK 阻害剤である SP600125 で処理し、72 時間後の細胞数を計測した。次に SK-MEL3 と SK-MEL-28 を用いて、JNK1 と JNK2 の siRNA で JNK1 と JNK2 のノックダウンを行い、migration、invasion assay を行った。HMW-MAA の発現に関しては、末端黒子型黒色腫の 53.6% で陽性となった。このうち、3/4 は弱陽性を示したが Stage 間に差はみられなかった。表在拡大型黒色腫 13 例では、全例で陽性となった。HMW-MAA は、末端黒子型黒色腫では従来の報告よりも発現率が高く、ホルマリン固定パラフィン切片でもその発現を十分に確認できることが判明した。メラノーマ細胞株における JNK の発現と機能については、SK-MEL-3 では JNK1 と JNK2 の両方に、SK-MEL-28 と WM169 では JNK1 にのみリン酸化が認められた。JNK 阻害剤により、SK-MEL-3、SK-MEL-28 とともに細胞増殖抑制がみられた。siRNA の導入では、SK-MEL-3 では JNK1 のノックダウンで遊走能が低下し、JNK1、JNK2 のノックダウンで著明な浸潤能の低下がみられた。SK-MEL-28 では JNK1 のノックダウンにより遊走能、浸潤能の変化は認められなかった。また、JNK はメラノーマ細胞株で活性化しており、JNK2 はリンパ節転移病変細胞株である SK-MEL-3 のみでリン酸化しており、JNK2 の活性化がメラノーマの転移に必要である可能性が示された。JNK 阻害剤での細胞増殖抑制効果からは、JNK1 と JNK2 の両方が細胞増殖に関与していることが推察され、遊走能、浸潤能については、細胞特異性があるが、細胞遊走は JNK1 に、細胞浸潤は JNK1 と JNK2 の両方に制御されている可能性が示された。

審査では、紫外線とメラノーマとの関連、HMW-MMA の活性化機構、正常組織での働き、悪性度、転移能、再発能、生命予後との関連、用いた免疫染色法の信頼度、染色パターンの heterogeneity、HMW-MMA と JNK との相互関係、JNK の悪性度との関連、SP600125 の特異性、用いた培養細胞の特性の違いや増殖、転移能の比較、JNK1、2 の活性度の違いをもたらす要因、今後の研究の展望などについての質疑がなされ、申請者よりの確かな回答がなされた。

本研究は、メラノーマの細胞接着、遊走、転移、浸潤を調節する重要な分子である HMW-MAA をホルマリン固定パラフィン切片標本を用いても発現の評価、病態解析ができることを明らかにするとともに、JNK の解析を通してメラノーマの新たな病因論を展開した点で学位の授与に値するものとして評価された。

審査委員長

病態情報解析学担当教授

安東由喜雄

審査結果

学位申請者名： 西 葉月

専攻分野： 皮膚機能病態学

学位論文名：

悪性黒色腫における High Molecular Weight Melanoma-Associated Antigen の病理学的
検討と、悪性黒色腫細胞株における JNK のアイソフォーム特異的な細胞活性の検討
(The expression of human high molecular weight melanoma-associated antigen in
malignant melanoma, and the role of JNK isoforms in the cellular activity of melanoma
cell lines)

指導教員名： 尹 浩信

判定結果：

可

不可

不可の場合：本学位論文名での再審査

可

不可

平成 23 年 2 月 2 日

審査委員長 病態情報解析学担当教授

安東由喜雄

審査委員 機能病理学担当教授

伊藤 隆明

審査委員 多能性幹細胞学担当教授

岸 昭 苑

審査委員 細胞病理学担当准教授

坂下直実