

## 論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	甲	第	号
------	---	---	---	---

氏 名 FARHANA Yesmin

論 文 題 目

Ganglioside GD2 Enhances the Malignant Phenotypes of Melanoma Cells by Cooperating with Integrins

(ガングリオシド GD2 はインテグリンとの協働作用によりメラノーマの悪性形質を増強する)

論文審査担当者 名古屋大学教授

主 査 委員 近藤 豊

名古屋大学教授

委員 木村 宏

名古屋大学教授

委員 榎本 篤

名古屋大学教授

指導教授 岡島 徹也

## 論文審査の結果の要旨

別紙 1-2

今回、GD2 陽性細胞が増殖度、浸潤能、接着能の亢進を示し、抗 GD2 抗体処理や integrin  $\beta 1$  のノックダウンにより、悪性形質が低下することが示された。GD2 は、生理的には脳の発生初期やグリアの活性化に関わっているかもしれない。EMARS/MS 法を用いて、細胞膜上の GD2 会合分子として integrin  $\beta 1$  を同定したが、その。物理的会合を免疫沈降/イムノブロッティング、免疫細胞染色や proximity ligation assay により示した。GD2 と integrin  $\beta 1$  が GEM/raft で協働作用し、FAK、p130Cas 等の作用を介して悪性形質を増強することが示された。今後、GD2 と integrin  $\beta 1$  の重要性を in vivo 実験により検討する

1. *ST8SIA1* and *B4GALNT1* の cDNA をヒトメラノーマ細胞株 SK-MEL-28 亜株、N1 (GD3 を欠損する) に導入し、GD2 の過剰発現細胞クローン (S1 and S6) および V4 及び V9 クローン (ベクターコントロール) を樹立した。  
GD2 陽性細胞は、GD2 陰性細胞に比べて、増殖度、浸潤能、接着能の亢進を示した。もし、GD2 が発現しなければ、増殖度、浸潤能、接着能が低下すると考えられる。抗 GD2 抗体により有意の増殖・浸潤能の抑制が見られ、一方、integrin  $\beta 1$  のノックダウンでは、増殖度・浸潤能・接着能の低下がみられた。また、脳の発生初期段階において GD2 と integrin との相互作用に関わっている可能性、アストロサイトの活性化と機能にも関わる可能性がある。
2. 今回、enzyme-mediated activation of radical sources (EMARS) と質量分析 (MS) を用いて細胞膜上の GD2 会合分子を同定し、integrin  $\beta 1$  を、GD2 と会合する膜分子として同定した。そこで、GD2 と integrin  $\beta 1$  の物理的会合を免疫沈降/イムノブロッティングにより証明し、双方の近接局在を、免疫細胞染色や proximity ligation assay により示した。これまで、メラノーマ細胞で GD3 発現が亢進すること、脂質ラフトにおいて integrin  $\beta 1$  と会合し、FAK, p130Cas, および paxillin のリン酸化を介して、細胞増殖や浸潤能を増強することや、抗 GD2 抗体が小細胞肺癌 (SCLC) 細胞のアポトーシスを誘導することが報告されているが、今回さらに、GD2 と integrin との相互作用に基づく EGFR、FAK のチロシンリン酸化によって、増殖度、浸潤能、細胞接着能の増強に至ることが示された。質量分析によって、180 及び 120 kDa の部位に EGFR、FAK を同定した。
3. GD2 は SCLC 細胞や神経外胚葉由来の癌に発現し、免疫療法の標的とされている。また、GD2 は神経芽細胞腫細胞の治療標的にもなっている。GD2 は細胞増殖や浸潤活性などの悪性形質の増強に働く。GD2 と integrin  $\beta 1$  がメラノーマの悪性形質増強に協働的に作用することから、ともに重要と考えている。将来計画として、細胞を免疫不全マウスの皮下に接種し、抗 GD2 抗体投与の効果、抗体非投与マウスと比較・検討する予定である。

以上の理由により、本研究は博士 (医学) の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。

## 試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第	号	氏 名	FARHANA Yesmin
試験担当者	主査	近藤 豊	副査 <sub>1</sub>	木村 宏
	副査 <sub>2</sub>	榎本 篤	指導教授	岡島 徹也
(試験の結果の要旨)				
<p>主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。</p>				
<ol style="list-style-type: none"> <li>あなたはGD2を過剰発現させましたが、もしGD2が発現しなかったら、何が起こりますか？他の癌でのGD2発現の効果はどうですか？また、GD2や Integrin <math>\beta 1</math> は神経細胞に多く存在しますが、GD2と Integrin <math>\beta 1</math> の相互作用の生理機能は何ですか？</li> <li>多くのタンパク質が存在する中で、Integrin <math>\beta 1</math> がGD2と共発現するのをどのようにみつけましたか？GD2とGD3発現の癌細胞における発現の違いに関して、GD2と Integrin <math>\beta 1</math>、GD3と Integrin <math>\beta 1</math> の発現とその効果の違いはなんですか？また、ウエスタンブロッティングで3バンドを検出していますが、いかなるタンパク質なのか同定しましたか？</li> <li>将来の研究計画を考える上で、メラノーマ細胞の浸潤/転移において、GD2と Integrin <math>\beta 1</math> のどちらが重要だと思いますか？また、将来計画におけるマウスモデルはどうなっていますか？</li> </ol>				
<p>以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、機能分子制御学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。</p>				