



Title	Study on Function of Protein Phosphatase PPM1D in Carcinogenesis and Cell Differentiation [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	小笠原, 紗里
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(理学)
Dissertation Number	甲第13669号
Issue Date	2019-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/74146
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Sari_Ogasawara_review.pdf, 審査の要旨



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士（理学） 氏名 小笠原 紗里

	主査	教授	村上 洋太
	副査	教授	坂口 和靖
審査担当者	副査	教授	高木 睦
	副査	教授	谷野 圭持
	副査	特任准教授	今川 敏明

学 位 論 文 題 名

Study on Function of Protein Phosphatase PPM1D in Carcinogenesis and Cell Differentiation

（発癌および細胞分化における脱リン酸化酵素 PPM1D の機能に関する研究）

癌抑制タンパク質 p53 依存的に誘導される Ser/Thr プロテインホスファターゼとして同定された PPM1D は、多様な癌において過剰発現や遺伝子異常が報告されており、PPM1D 活性の異常亢進が細胞癌化および悪性化に深く関与し、癌原遺伝子産物として癌治療の標的分子として注目されている。そのため、PPM1D に対する強力かつ特異的な阻害剤は、抗癌剤開発において有望なリード化合物となる。一方、PPM1D は神経発生や精子形成、免疫応答、幹細胞維持における生理的条件下での機能が報告されている。近年、レチノイン酸（RA）シグナルによる RA 標的遺伝子の転写活性化または不活化を介した細胞分化の制御が、癌治療の面からも注目を浴びている。このため、PPM1D の特異的かつ効果的な阻害剤の開発と、未分化細胞の分化誘導過程における PPM1D 標的タンパク質同定および制御機構解明が強く望まれている。

本学位論文は全五章より構成されている。第一章では総括的な序論として PPM1D 機能および癌における PPM1D 異常、PPM1D 阻害剤、細胞分化を含む本研究における背景および目的を述べている。

第二章では、より強力かつ効率的な新規 PPM1D 阻害剤開発について述べている。本研究では、強力な PPM1D 阻害剤である SL-176 の疎水性部位シリル基と親水性部位カルボキシ基の構造活性相関解析を行っている。その結果、SL-176 の疎水性部位が阻害活性に重要であり、立体的に嵩高く脂溶性の高い分子がより PPM1D 阻害に適していることを明らかとした。また、親水性部位について、SL-176 カルボキシ基を 4-アミノブチルエステル化したアナログである SL-183 が、*in vitro* において PPM1D 阻害活性をほとんど示さない一方、細胞投与においては極めて高い細胞増殖抑制活性を示すという非常に興味深い結果を得ている。さらに、高感度質量分析により、SL-183 が細胞内で SL-176 に変換されることを示した。この結果より、カルボン酸のアミノアルキルエステル化が SL 化合物の細胞内取り込みを著しく向上させることを示唆した。本結果は、より高活性で副作用の低い抗癌剤の開発のために重要な知見を与えるものである。

第三章では、ヒト胚性癌細胞 NT2/D1 細胞のレチノイン酸（RA）依存的分化誘導過程における PPM1D の機能解析について述べている。PPM1D のノックダウンあるいは活性阻害により未分化細胞のマーカーであるアルカリホスファターゼ活性および幹細胞マーカーである Oct-4 が減少し、PPM1D が NT2/D1 細胞の未分化状態維持に関与することを示した。さらに、RA と SL-176 の投与による Oct-4 遺伝子の時間依存的発現量の解析により、PPM1D が RA 分化誘導シグナルの比較的初期段階で機能している可能性を示唆している。さらに、RA 投与条件において、不活性型 PPM1D 発現細胞は野生型 PPM1D 発現細胞と比較し Oct-4 発現量が低いことを明らかとしている。これらの結果より、PPM1D が NT2/D1 細胞の未分化維持に必要であり、PPM1D 活性の減少が RA 分化誘導を促進することを示唆した。

第四章では、RA 分化誘導シグナルにおける PPM1D の機能について述べている。NT2/D1 細胞において、RA 投与 5 分後に一過的な ERK-1/2 リン酸化が起こり、RA が MEK-ERK 経路を刺激することを明らかとした。また、PPM1D 阻害が RA 分化誘導を促進させることを示した。さらに、RA-MEK-ERK 経路により活性化する ERK リン酸化調節を介して PPM1D が RA 分化誘導過程に関与することを示した。

第五章では、本研究の総括的な結論を述べている。本研究において、構造活性相関解析から SL-176 活性に必要な構造要因を明らかにするとともに、高い細胞導入のための手法を見出した。また、NT2/D1 細胞において、PPM1D が RA-MEK-ERK 経路によって誘起される ERK-1/2 のリン酸化レベルを調節するモデルを提唱した。

以上、本研究により、PPM1D に対する阻害剤 SL-176 の構造活性相関解析による新規な高活性、高効率阻害剤の開発を実施し、細胞分化における PPM1D の新規標的および新規制御経路モデルを提案した。これらの研究は、癌治療や発癌メカニズム解明のための有用な阻害剤を提供し、細胞分化を制御するシグナル伝達のメカニズム解明に貢献するものであると高く評価される。よって審査員一同は、著者が北海道大学博士（理学）の学位を授与される資格あるものと認める。