

氏名（本籍）	土屋 舞
学位の種類	博 士（ 農学 ）
学位記番号	博 甲 第 7355 号
学位授与年月日	平成 27 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	生命環境科学研究科
学位論文題目	ユビキチンリガーゼCHIPによる乳がんの悪性化抑制メカニズムの解析

主査	筑波大学准教授	博士（薬学）	木村 圭志
副査	筑波大学教授	農学博士	馬場 忠
副査	筑波大学教授	農学博士	深水 昭吉
副査	筑波大学教授	博士（農学）	谷本 啓司

論 文 の 要 旨

近年、女性の乳がん罹患率は増加しており、日本女性においても乳がんの患者数、死亡者数は急増している。そのため、新たな治療標的の探索や技術の開発が急務である。がんの不均一性が、新たな治療戦略を考えるうえで注目されている。乳がんを含む多くのがんは、遺伝子発現や悪性形質のような様々な性質において不均一な細胞集団を形成することが知られている。このがんの不均一性により、抗がん剤耐性の獲得などが引き起こされ、がんの寛解を妨げると考えられている。がんの不均一性は、複数の原因によって引き起こされる。中でも、がんの増殖に伴って蓄積される「遺伝子変異」と、幹細胞のように他の性質をもった細胞へと分化できる「がん幹細胞」の存在が主な原因だと考えられている。しかし、がんの不均一性増加に関わる因子などの分子メカニズムについては、未だ多くは知られていない。

過去の報告において、蛋白質品質管理を行うユビキチンE3リガーゼであるcarboxyl terminus of Hsc70-interacting protein（CHIP）の発現量が、乳がんの臨床病理学的ステージや予後不良と逆相関関係にあることが示された。しかし、そのメカニズムについては不明な点が多い。転移や腫瘍形成とCHIPの関係についてはすでに報告があることから、本研究では、抗がん剤耐性獲得と、がん幹細胞に注目し、CHIPによる乳がんの悪性化抑制メカニズムの解析を行った。

実験の結果、乳がん細胞株MCF-7、T47DにおけるCHIPのノックダウンは、抗アポトーシス因子やがん幹細胞関連因子を含む多くの遺伝子の発現量を変化させ、乳がん細胞間におけるこれら因子の発現量の多様性を亢進させた。また、CHIPのノックダウンは、乳がん細胞集団内の抗がん剤耐性細胞やがん幹細胞の割合を増加させた。これらの結果から、CHIPが、細胞の表現型に影響を与えるような遺伝子発現量のばらつきを緩衝することが示唆された。次に、このような遺伝子発現のばらつきが生じる原因を明らかにすることを試みた。過去の報告では、*Drosophila melanogaster* や *Arabidopsis thaliana* の発生過程において、CHIPと協調して蛋白質の品質管理を行うHeat shock protein（HSP）90の機能を阻害すると、個体の持つ遺伝的背景の違い依存的に個体の表現型に多様性が生じることが示されている。乳がん細胞をはじめとするがん細胞も、増殖に伴って遺伝子変異が蓄積していくことはよく知られており、細胞ごとに異なる遺伝的背景を持つと考えられる。そのため、乳がん細胞株から1細胞由来のクローンを単離し、この細胞を用いてCHIPのノックダウンを行った。その結果

CHIPをノックダウンしたクローン由来細胞では、クローン化していない細胞群でみられるような、遺伝子発現量の多様性の変化は引き起こされなかった。一方で、このクローン由来細胞に変異原となる薬剤(ENU)を処理し、再び細胞間の遺伝的背景の違いを生み出した場合には、CHIPのノックダウンによって遺伝子発現量の多様性や細胞の表現型が変化した。このことから、CHIPが細胞間の遺伝子の多様性を緩衝することによって、乳がん細胞ごとの遺伝子発現量や細胞の表現型の多様性を抑えていることが示された。遺伝子の多様性やがん幹細胞の性質は、表現型の不均一性を亢進させる重要な推進力となることから、これらの結果は、遺伝子の多様性と蛋白質品質管理のバランスが、乳がん細胞間の表現型の不均一性に影響を与えることを示唆している。

審 査 の 要 旨

本研究は、ユビキチンリガーゼCHIPが抗がん剤耐性細胞やがん幹細胞の増加を抑制することによって乳がんの悪性化を抑制することを示した。さらに、この抑制効果には、近年臨床の場面で注目を集めている「がんの不均一性」が関わっており、CHIPが乳がん細胞間の遺伝的背景の違い依存的な遺伝子発現量の不均一性を緩衝することによって、抗がん剤耐性細胞やがん幹細胞の増加を抑制していることを見出した。これによって、タンパク質の品質管理機構と遺伝的背景の違いのバランスががんの不均一性の度合いを決定するという、新たな概念を示した研究である。これまでに、がんの不均一性の緩衝を行う因子の報告はほとんどなされていないことから、その一端を明らかにした点において評価できる。

先行研究では、CHIPの発現亢進によって乳がん細胞の腫瘍形成や転移が抑制されることが示され、臨床データの解析では、CHIPの発現量と乳がん患者の予後やステージに負の相関があることも報告されている。現時点では乳がんの培養細胞を用いた実験しか行われていないが、CHIPはほとんどの臓器で発現していることから、今後、臨床データとの整合性の検証や、乳がん以外のがん種での実験を積み重ねることによって、種々ながん種においてCHIPを指標とした新規治療薬や治療法の開発へと進展していく可能性があると考えられる。

平成 27年 1月 20日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。