

氏名	吉田 綾恵		
学位の種類	博士( 生物科学 )		
学位記番号	博甲 第 8577 号		
学位授与年月日	平成 30年 3月 23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	Clarification of Physiological Functions of Spindle Assembly Checkpoint Factor BubR1  (紡錘体形成チェックポイント因子 BubR1 の生理学的機能の解明)		
主査	筑波大学教授	学術博士	橋本 哲男
副査	筑波大学准教授	博士( 理学 )	千葉 親文
副査	筑波大学教授	博士( 理学 )	稲垣 祐司
副査	筑波大学准教授(連携大学院)	博士( 医学 )	永宗喜三郎

## 論 文 の 要 旨

Budding uninhibited by benzimidazole-related 1 (BubR1) は、正常な染色体分配を監視するスピンドルアセンブリチェックポイント (SAC) の主要因子である。BubR1遺伝子の先天的な異常により、染色分体早期解離／多彩異数性モザイク症候群が引き起こされることが知られている。その一方で、近年BubR1の低発現マウスで老化現象が促進されることが示され、BubR1が加齢に関与している可能性が示唆された。さらに、BubR1が欠損した細胞では、細胞オルガネラの一つである一次繊毛が形成されないことから、非細胞分裂期における繊毛形成にBubR1が関与していることも明らかとなった。このように、BubR1の多機能性が広く認められてきている状況において、本論文の著者は、更なるBubR1の生理学的役割を解明するため、加齢による肝再生遅延および染色体異数性 (DNA aneuploidy) 細胞の増殖および発癌に関して、それぞれBubR1との関連性を検討し、それらの成果を本論文としてまとめた。

肝臓は再生能の高い臓器であるが、加齢とともにその再生能力が低下し、高齢患者における肝切除手術後の肝再生遅延は、肝機能の障害を招き予後に影響を及ぼす。老化にはBubR1の低発現も関与していると報告されていたが、肝再生との関連性を検証した報告はなかった。そこで、本論文の著者は、肝臓の再生能力に対するBubR1の影響を検討し、第一章においてその成果について論述した。著者はBubR1低発現マウスに対して肝切除を行い、肝再生の遅延かつ強い肝傷害が見られることを確認し、それらとBubR1の関連について解析した。肝切除後の肝臓では、細胞増殖マーカーの発現異常が見られ、細胞傷害性に活性化する増殖抑制因子の発現が増加していた。類洞の拡張を伴った肝細胞の壊死巣が出現し、肝再生時に肝構造の異常が高倍率の病理組織像で確認された。また、肝再生時に細胞接着因子 desmocollin-1 (DSC-1) の発現が低下しており、*in vitro*の検討でも、BubR1とDSC-1の発現の相関が確認された。一方、高齢C57BLマウスでは、若齢マウスに比べてBubR1の発現は有意に低く、肝切除後の肝

再生の遅延と強い肝傷害を示した。これらのことから、著者は、BubR1発現量の低下に伴い、肝切除後の肝再生時にDSC-1の発現が低下し、それにより肝臓が異常な構造変化を起こし、肝細胞の壊死が誘発され、その障害によって細胞増殖抑制因子が増加し、肝再生の遅延が生じると考えた。すなわち、加齢による肝再生遅延の一端にBubR1の低下が寄与している可能性を示唆した。

第一章の成果を含め、既存のBubR1に起因する疾病の原因は、BubR1の低発現に由来するとした報告が多いが、SAC機能を持つBubR1が発現しているにも関わらず、DNA aneuploidyを伴う腫瘍が発生する場合もあり、そのメカニズムは不明である。一方、DNA aneuploidyを伴う腫瘍の発生には、polyplloid 細胞が発生・増殖することが重要であることから、p53またはp21の機能低下や、活性酸素種の過剰蓄積などが関与している可能性が示唆されていた。そこで本論文の著者は、p53 knockdown (KD) 細胞を用いて、酸化ストレス曝露によるpolyplloid細胞の発生・増殖におけるBubR1の寄与を検討し、その成果について本論文の第二章で論述した。p53が正常に機能している場合、酸化ストレスの曝露によりp53シグナルの増加、及びBubR1の発現量の減少が見られた。p53 KD細胞では、酸化ストレス曝露によるBubR1発現量の減少が、タンパク質及びmRNAのレベルで抑制された。p53 KD細胞に酸化ストレスを曝露すると、polyplloid細胞が発生・増殖するが、この現象は、p53/BubR1 double KD細胞においては抑制された。したがって、BubR1がp53 KD下で発生するpolyplloid細胞の発生・増殖に寄与していると考えられた。一方、実際の胃癌部臨床検体においてもp53の異常とBubR1の過剰発現、およびp53の異常/BubR1の過剰発現とDNA aneuploidyそれぞれの間に相関が認められた。これらのことから、著者は、BubR1がp53の異常に起因するDNA aneuploidyを伴った腫瘍の発生に寄与している可能性を示唆した。

最後に著者は、第一章、第二章の成果をもとに、BubR1がSAC機能以外の細胞分裂に関連する機能や細胞分裂以外の生理機能、すなわち、織毛病、老化、肝再生遅延・肝障害などの病態の背後にある機能に関与しており、非常に多機能なタンパク質であることについて、BubR1を標的とする薬剤開発との関連を踏まえて総合的に考察した。さらに、多様な生理機能の背後にあるBubR1の本質的な分子機能として、微小管の大きな変化を伴う生理反応に関与している可能性を示唆した。

## 審 査 の 要 旨

本論文は、紡錘体形成チェックポイント因子である BubR1 の新機能に関する研究成果について述べたものである。本論文によって明らかとなった 2 つの事実、すなわち、「肝切除後の肝再生時において BubR1 の発現量の低下に伴い細胞接着因子 DSC-1 の発現が低下し肝再生の遅延が起こること」、「酸化ストレス状況下で p53 の発現が低下すると BubR1 の発現が過剰となり polyplloid 細胞が発生・増殖すること」、はいずれも細胞生物科学分野の新知見であり、BubR1 機能の多様性の一端を明らかにしたという点で高く評価できる。また、本論文の成果は、BubR1 の多様な生理機能の背後にある本質的な分子機能の探求をめざす基礎生物学的研究の端緒となるとともに、BubR1 の異常がもたらすさまざまな疾患に対する薬剤開発という応用面への波及効果をもつものでもあるため、生物科学の研究成果として優れたものと判断できる。

平成30年1月31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（生物科学）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。