

第 8 号様式

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)	氏名	岩本 秀雄
学位授与の要件	学位規則第 4 条第①・ 2 項該当		
論 文 題 目			
Promotion of cancer cell proliferation by cleaved and secreted luminal domains of ER stress transducer BBF2H7 (小胞体ストレストランスデューサーBBF2H7 の分泌断片による癌細胞増殖促進機構)			
論文審査担当者			
主 査	教授	浅野 知一郎	
審査委員	教授	東 幸仁	
審査委員	准教授	北台 靖彦	
〔論文審査の要旨〕			
<p>低酸素状態，低グルコース状態，酸化ストレスなどの様々な異常環境によって，小胞体のタンパク質折り畳み機能が攪乱した状態を小胞体ストレスという。小胞体ストレスが発生すると，直ちに細胞は防御機構として小胞体ストレス応答（Unfolded Protein Response;UPR）を活性化させる。UPR は単なるストレス防御機構として働くだけでなく，特定の細胞の分化・成熟，組織形成を制御することもわかってきた。小胞体ストレストランスデューサーである小胞体膜貫通型 bZIP 転写因子 BBF2H7 は小胞体ストレスに応答して膜内切断を受け，N 末端断片は核内へ移行して転写因子として機能する。切断された C 末端断片は細胞外に分泌され，ヘッジホッグシグナルを活性化させて細胞を増殖させることがマウス軟骨細胞で証明されている。ヘッジホッグシグナルは癌細胞の増殖や腫瘍形成に深く関わっていることがよく知られており，本研究ではヒト癌細胞における BBF2H7 C 末端断片の細胞増殖促進効果について検討した。</p> <p>ヒト腫瘍組織での <i>Bbf2h7</i> の発現を調べるため，マイクロアレイデータベースである Oncomine を用いて正常組織と腫瘍組織における発現差異について解析した。膠芽腫，乳癌，子宮頸癌，前立腺癌では正常組織と比較して <i>Bbf2h7</i> の発現が有意に上昇していたが，結腸癌ではその上昇は認められなかった。つまり，<i>Bbf2h7</i> は腫瘍組織に画一的に高発現しているのではなく特定の癌細胞で発現が高まっていることを示唆していた。抗 BBF2H7 C 末端抗</p>			

体を使って膠芽腫の免疫染色を行うと、腫瘍細胞の約 30%に陽性シグナルが検出された。そのシグナルは腫瘍細胞内の核周囲および細胞周囲に認められ、小胞体および癌細胞間隙（細胞外）に BBF2H7 C 末端断片が局在していると考えられた。次に、膠芽腫 U251MG 細胞、乳癌 MCF7 細胞、子宮頸癌 HeLa 細胞、前立腺癌 LNCap 細胞、結腸癌 LS174T 細胞の各癌細胞株を用いてウエスタンブロッティングを行った。その結果、全長型 BBF2H7 が LS174T 細胞以外の全ての癌細胞株に検出された。興味深いことに、それら細胞では切断された N 末端断片および C 末端断片も検出されたことから全長型 BBF2H7 が活性化し切断されていることがわかった。BBF2H7 は小胞体ストレスに依存して膜内切断を受ける。小胞体ストレス時に起こる *Xbp1* のスプライシングが全ての癌細胞で検出されたことから、癌細胞では小胞体ストレスが発生しており、それにより BBF2H7 が切断され活性化されていることもわかった。

ヒト BBF2H7 C 末端断片にマウスと同様な細胞増殖促進作用があるかを調べるため、野生型と比較して細胞増殖が低下している BBF2H7 欠損マウス胎児線維芽細胞にヒト BBF2H7 発現ベクターを導入し細胞増殖速度の変化を調べた。BBF2H7 の全長および C 末端断片を発現させると、低下していた BBF2H7 欠損マウス胎児線維芽細胞の細胞増殖速度は回復したが、N 末端断片を発現させても回復しなかった。したがって、ヒト BBF2H7 C 末端断片は、マウスと同様な細胞増殖促進作用があることがわかった。次にヒト BBF2H7 C 末端断片のヒト癌細胞増殖への関与を調べた。BBF2H7 C 末端断片を過剰発現させた HEK293T 細胞の培養液（BBF2H7 C 末端断片含有培養液）を U251MG 細胞の培養液中に添加した細胞では有意に細胞増殖速度が亢進した。このときヘッジホッグシグナルの活性化指標である *Gli1* および *Fox11* の発現レベルも有意に上昇していた。BBF2H7 C 末端断片の細胞増殖およびヘッジホッグシグナルへの効果は、培養液から C 末端断片を抗 BBF2H7 C 末端抗体で吸収することでキャンセルされた。さらにヘッジホッグシグナルのインヒビターであるシクロパミンでも同様の結果が得られた。一方、BBF2H7 をノックダウンした U251MG 細胞では、*Gli1* および *Fox11* の発現低下を伴うヘッジホッグシグナルの減弱と細胞増殖の抑制が観察された。ノックダウン細胞の培養液中に BBF2H7 C 末端断片を添加することでヘッジホッグシグナルおよび細胞増殖が回復した。以上より、癌細胞内で発生した小胞体ストレスにより BBF2H7 は切断され、その結果生じた BBF2H7 C 末端断片は一旦細胞外に分泌された後、癌細胞のヘッジホッグシグナルを活性化して細胞増殖を促進させることが証明された。

以上の結果から、本論文は小胞体ストレストランスデューサーの分泌フラグメントが癌細胞の増殖を制御する新たなメカニズムを提唱した点で極めて高く評価できる。ヘッジホッグシグナルはいくつかの癌種において増殖、浸潤、転移に重要な役割を果たすことが最近多数報告されており、癌治療標的として特に注目が集まっている。BBF2H7 C 末端断片に特異的に作用しヘッジホッグシグナルを遮断できる薬物やモノクローナル抗体は癌治療薬につながる可能性が高いと期待できる。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。

