

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)	氏名	浅田 梨絵
学位授与の要件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論 文 題 目			
<p>The endoplasmic reticulum stress transducer OASIS is involved in the terminal differentiation of goblet cells in the large intestine.</p> <p>(大腸杯細胞の最終分化における小胞体ストレスセンサー OASIS の役割)</p>			
論文審査担当者			
主 査	教 授	田中 信治	
審査委員	教 授	酒井 規雄	
審査委員	准教授	鎌田 英明	
〔論文審査の要旨〕			
<p>細胞内外からの各種ストレスや大量の分泌タンパク質の合成は小胞体機能を攪乱し、不完全なタンパク質が小胞体内に大量に生み出される。このような状態を小胞体ストレスという。細胞にとって小胞体機能異常はきわめて重篤な事態で、直ちに小胞体膜上に存在する小胞体ストレスセンサーを起点とした防御機構である小胞体ストレス応答 (Unfolded Protein Response; UPR) を活性化する。近年、UPR は防御機構としてだけでなく、特定の細胞の分化・成熟にも重要な役割を果たしていることが明らかとなってきた。当研究室で同定した小胞体膜貫通型転写因子 OASIS (old astrocyte specifically induced substance) は、小胞体ストレスに応答して膜内切断を受け、bZIP ドメインを持つ N 末端側が核内に移行して標的遺伝子の転写を誘導する。OASIS は骨芽細胞やアストロサイトの分化に必須であることが明らかとなっているが、その他の組織における役割は不明である。生体内における OASIS の役割をより詳細に解明することを目的として本研究を行った。</p> <p>全身の組織における OASIS の発現分布を RT-PCR によって解析すると、大腸においてきわめて強く発現していることが明らかとなった。in situ hybridization を行うと、OASIS の発現細胞が大腸粘膜上皮の陰窩底に存在する未成熟な杯細胞に同定された。次に OASIS 欠損マウスの大腸粘膜における組織学的解析を行った。その結果、粘液を豊富に含んだ成熟杯細胞の数が野生型マウスと比較して著しく減少しており、反対に粘液をほとんど含有しない未成熟杯細胞が増加していた。超微形態学的解析において、野生型マウスの杯細胞では整然と敷き詰められた大きな粘液小胞が細胞質中に数多く存在していたが、OASIS 欠損マウスでは粘液小胞の形態に乱れを生じ、その数も減少していた。以上より OASIS は大腸杯細胞の分化やそれに伴う粘液小胞の形成に関与することが示唆された。</p>			

OASIS の杯細胞分化における役割を明らかにするため RT-PCR を用いて各分化段階におけるマーカー遺伝子の発現量を野生型と OASIS 欠損マウスで比較した。腸管上皮幹細胞から杯細胞前駆細胞へ分化を決定づける遺伝子群の発現量は野生型と OASIS 欠損マウスで変化がなく、初期分化は正常であることが示唆された。しかし杯細胞前駆細胞のマーカー遺伝子である *Trefoil factor 3* の発現量が OASIS 欠損マウスで有意に増加し、一方で *Mucin2* をはじめとした複数の成熟杯細胞マーカー遺伝子の発現量が軒並み減少していた。従って、OASIS 欠損マウスでは杯細胞前駆細胞から成熟杯細胞への最終分化過程に異常があることが明らかとなった。杯細胞の最終分化と OASIS の関連性をより詳細に解明するため、培養細胞を用いて杯細胞分化過程における OASIS の活性化レベルを検討した。ヒト結腸癌細胞 LS174T は酪酸ナトリウムで処理することで成熟杯細胞へと分化誘導することができる。LS174T を酪酸ナトリウムで処理し、その後の OASIS の発現をウェスタンブロットによって解析すると、OASIS の膜内切断が亢進しており、OASIS が杯細胞の分化過程において活性化していることが明らかとなった。更に OASIS の活性化と同調して小胞体ストレスマーカー遺伝子群の発現量が微量ではあるが有意に上昇しており、軽度の小胞体ストレスが発生していることが示唆された。siRNA を用いて *Oasis* をノックダウン (KD) した LS174T に酪酸ナトリウムで分化誘導を行うと、酪酸ナトリウムによって増加していた成熟杯細胞マーカー遺伝子群の発現量が *Oasis* KD によって抑制された。一方で小胞体ストレスマーカー遺伝子群の発現量はコントロールと同様に上昇しており、OASIS の活性化に先行して小胞体ストレスが発生していることが示された。以上より、OASIS は大腸杯細胞の分化過程で発生する軽微な小胞体ストレスに応答して活性化し、杯細胞前駆細胞から成熟杯細胞への最終分化を進めることが明らかとなった。

次に、大腸炎発症における OASIS の役割について調べた。Dextran sulfate sodium (DSS) の飲水投与によって誘発される大腸炎モデルを使用した。OASIS 欠損マウスでは野生型マウスと比較して大腸炎が増悪していた。また、大腸粘膜における小胞体ストレスマーカー遺伝子の発現量が大きく増加しており、強い小胞体ストレスが発生していることも示唆された。化学シャペロンであるタウロウルソデオキシコール酸 (TUDCA) を DSS と同時に投与して小胞体ストレスを緩和すると、OASIS 欠損マウスで観察された強い大腸炎が抑制されていた。以上より、OASIS は DSS で誘導される大腸炎に対し保護作用を示すとともに、大腸炎の際に生じる小胞体ストレスにも抑制的に働くことが明らかになった。

以上の結果から、本論文は大腸杯細胞の分化制御機構の一端を解明すると同時に、大腸炎発症における小胞体ストレスと OASIS の役割を明らかにした重要な成果である。よって、審査委員会委員全員は本論文が申請者に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。