

学位論文要旨

氏名 円城寺 秀平

題 目： 炎症を起因としたがん悪性化の生体内分子機構の解明

本研究は、プロテアーゼ活性化受容体-2 (PAR2) とタンパク質脱リン酸化酵素 PP2A の阻害タンパク質 SET/I2PP2A を介した炎症およびがん悪性化の生体内分子機構を解明することで、新規治療法開発の基盤形成を目的に実施した。

PAR2 による炎症増悪化分子機構の解明

【背景・目的】 炎症反応は、生体の恒常性維持に重要な機構であるが、慢性的な炎症反応はクローン病などの炎症性疾患やがんの発生に寄与する。PAR2 は、炎症反応を惹起・増悪化させることが知られている。また、近年、PAR2 の発現上昇ががんの悪性度と相関することも明らかになってきており、炎症の増悪化を介して、がん悪性化にも関与していると考えられる。一方、上皮細胞の細胞間結合であるタイトジャンクションはバリア機構として働き、その崩壊は異物の侵入と共に炎症反応を誘導する。タイトジャンクションが崩壊する詳細な分子機構は未解明な点が多く、PAR2 との関係についても明らかになっていない。本研究では第2章において、PAR2 の活性化がタイトジャンクションに与える影響について検討することで、PAR2 による炎症反応増悪化の分子機構を解明することを目的に研究を行った。

【結果・考察】 イヌ腎臓尿管上皮細胞由来細胞株である MDCK 細胞において、PAR2 は細胞間に限局し、管腔側からの PAR2 活性化因子の刺激にはタイトジャンクションが障壁となって抵抗性を示した。一方、基底膜側から曝露された PAR2 活性化因子は p38 MAPK を活性化し、タイトジャンクション構成因子である ZO-1 の局在変化を引き起こして細胞間透過性を亢進させた。以上の結果より、炎症反応やアレルギー反応時における上皮組織からの PAR2 活性化因子の曝露が、上皮細胞間の PAR2 を活性化し、タイトジャンクションを崩壊させることで、さらなる炎症の増悪化をもたらしている可能性が示唆された。

SET/I2PP2A によるがん悪性化分子機構の解明

【背景・目的】 がんは、獣医療・ヒト医療双方において克服すべき重要な疾患である。イヌとヒトのがんには、分子生物学的にも共通点が多数あり、双方で得られた知見が互いに活用できる可能性が指摘されている。そのため、イヌとヒトに共通するがん悪性化機構の解明は、比較腫瘍学的観点から新たな抗がん戦略として有効である。本研究では、イヌとヒトのがんに対する共通の治療標的として、重要ながん抑制因子である Ser/Thr タンパク質脱リン酸化酵素 PP2A と、その阻害タンパク質である SET/I2PP2A (SET) に注目した。PP2A は、細胞内のシグナル

因子を脱リン酸化することでがんの発生と悪性化に対し抑制的に機能するが、様々ながんにおいて PP2A 阻害タンパク質の発現による PP2A 活性の抑制が報告されている。SET は、PP2A に直接結合することでその活性を阻害し、がん悪性化において重要な役割を果たす。そのため SET を標的とし、その機能を阻害して PP2A 活性を回復させることが、新たな抗がん戦略として期待される。しかし、SET によるがん悪性化機構には未だ明らかになっていない点が多くあり、獣医療における SET 阻害による抗がん効果の可能性についても十分な検討が行われていない。本研究では第 3 章において、イヌメラノーマにおける SET の機能解明と SET 標的薬の効果を検討することで、獣医療における SET 阻害による抗がん戦略の可能性を検討するとともに、ヒトのがんと共通の治療標的としての SET の有用性を明らかにすることを目的に研究を行った。第 4 章では、SET の発現や悪性化との関係が解明されていないヒトの胃癌において、SET の胃癌悪性化分子機構の解明と SET 標的薬の効果の検討を行った。

【結果・考察】第 3 章において、イヌメラノーマ原発巣由来細胞株である CMeC-1 と転移巣由来細胞株である CMeC-2 に対して SET 発現抑制を行ったところ、CMeC-2 細胞でのみ細胞増殖能、細胞浸潤能、コロニー形成能が低下した。また、SET を阻害することで PP2A 活性を回復させる OP449 および FTY720 は、SET 発現抑制時と同様に CMeC-2 に対して強い抗がん効果を示し、PP2A 活性を回復させた。これらの結果から、獣医療における新たな治療標的として SET が有用であることが示唆された。第 4 章において、胃癌モデルマウスの腫瘍部において顕著な SET タンパク質発現量の増加が認められ、SET タンパク質発現が高いヒト胃癌患者では低発現の患者よりも予後が悪かったことから、SET タンパク質発現亢進が胃癌の悪性度を上昇させていると考えられる。また、ヒト胃癌細胞株において SET 発現を抑制したところ、細胞増殖速度は変化せず、コロニー形成能が低下した。一方、ヒト胃癌細胞株における SET 発現抑制は、E2F1 のタンパク質発現を減少させた。以上の結果より、得られた表現型の変化は、SET による PP2A 活性の抑制が、転写因子 E2F1 のリン酸化レベルを上昇させることでタンパク質発現を安定化していることに起因していると考えられる。さらに OP449 は、ヒト胃癌細胞株の E2F1 タンパク質発現を減少させ、SET 発現抑制時と同様の分子機構を介して抗がん効果を示した。これらの結果は、胃癌には SET、PP2A、E2F1 の相互作用を介したがん悪性化機構が存在し、それが新たな治療標的となりうる可能性を示すものである。

本研究により、慢性炎症の原因として PAR2 の活性化によるタイトジャンクション崩壊が関与している可能性が示された。また、イヌとヒトのがんに対する共通の治療標的として SET の有用性を明らかにするとともに、SET による新たながん悪性化分子機構を解明した。本研究で得られた成果は、抗炎症として PAR2 阻害が有効である可能性、ならびに SET を介したがん悪性化分子機構の解明は、イヌとヒトの新規抗がん剤の開発と進展に大いに貢献することが期待される。

学位論文審査の結果の要旨

氏名	円城寺 秀平
審査委員	主査： 山口大学・教授・佐藤晃一
	副査： 鹿児島大学・教授・宮本篤
	副査： 山口大学・教授・水野拓也
	副査： 鹿児島大学・准教授・白石光也
	副査： 山口大学・准教授・大濱剛
題目	炎症を起因としたがん悪性化の生体内分子機構の解明
審査結果の要旨： がんは、獣医療・人医療双方において克服すべき重要な疾患である。イヌとヒトのがんには、分子生物学的にも共通点が多数あり、双方で得られた知見が互いに活用できる可能性が指摘されている。一方、炎症反応は生体の恒常性維持に重要な機構であるが、慢性炎症は、がんの発生に寄与する。本学位論文は、第 2 章において、近年がんの悪性化と関連することが明らかとなったプロテアーゼ活性化受容体-2 (PAR2) による炎症増悪機構について研究を行った。第 3 章、第 4 章においては、イヌとヒトのがんに対する共通の治療標的として重要ながん抑制因子である、Ser/Thr タンパク質脱リン酸化酵素 PP2A と、その阻害タンパク質である SET/12PP2A (SET) に注目して研究を行った。 本研究により、第 2 章では、炎症反応やアレルギー反応時における上皮組織からの PAR2 活性化因子の暴露が、上皮細胞間の PAR2 を活性化し、タイトジャンクションを崩壊させることで、さらなる炎症の増悪化をもたらしている可能性が示唆された。第 3 章では、イヌメラノーマ原発巣由来細胞株と転移巣由来細胞株を用いて、SET 発現抑制や SET 阻害薬を用いた研究を行うことで、獣医療における新たな治療標的として SET が有用であることが示唆された。さらに第 4 章では、胃癌モデルマウスやヒト胃癌組織と細胞株を用いた研究を行うことで、胃癌には SET, PP2A, 転写因子 E2F1 の相互作用を介したがん悪性化機構が存在し、それが新たな治療標的となりうる可能性を示した。 本研究で得られた成果は、抗炎症治療標的として PAR2 阻害が有効である可能性を示すとともに、SET を介したがん悪性化分子機構の解明は、イヌとヒトの新規抗がん剤の開発と進展に大いに貢献することが期待される。 以上より、本論文は博士 (獣医学) の付与に資する内容であると考える。	