

【7】

氏 名	賽 序 斌
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	甲第706号
学位授与の日付	平成30年3月6日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項 (内科学（消化器）)
学位論文題目	TSG101, a tumor susceptibility gene, bidirectionally modulates cell invasion through regulating MMP-9 mRNA expression (TSG101によるMMP-9 mRNAの発現調節を介した癌細胞浸潤の2方向性の制御)
論文審査委員	(主査) 教授 今 井 康 雄 (副査) 教授 窪 田 敬 一 教授 大 類 方 巳

論 文 内 容 の 要 旨

【背 景】

Tumor susceptibility gene 101、TSG101は最近、エクソソーム形成に関わるESCRTタンパクの一つとして注目されており、エンドソーム輸送、転写制御、細胞成長に関与することが報告されているが、最初は、NIH3T3マウス線維芽細胞において、がん抑制分子として発見された。

しかし、その後の研究から、ある種のがん細胞株においては、逆にがん細胞の増殖能や運動能を亢進させていることが明らかになっており、現在TSG101は、がん細胞株ごとに悪性度に対して全く正反対の機能を有する可能性があると考えられている。

しかし、がん細胞の悪性度に対するTSG101の機能と作用機構の詳細については明らかになっていない。

【目 的】

がん細胞の悪性度の一つの指標である細胞浸潤能に着目し、細胞浸潤能におけるTSG101の機能と作用機構の解明を目的とした。

【対象と方法】

本研究は獨協医科大学生命倫理委員会の承認を得て、指針にしたがって行った。

本研究では、RNA干渉を用いた。

間葉系細胞株としてHT1080細胞を、上皮系細胞株としてHeLaS3細胞を用いて腫瘍細胞の悪性度におけるTSG101の関与について検討した。

統計処理方法：Studentのt検定。

【結 果】

TSG101の発現抑制により、両細胞株ともに細胞の増殖能、運動能には影響を受けなかった。しかし、細胞の浸潤能に関しては、HT1080細胞では亢進し、HeLaS3細胞では逆に抑制された。

【考 察】

現在、細胞浸潤にはメタロプロテアーゼ系の関与が明らかになっている。

エクソソーム形成に関わるESCRTタンパクの一つであるTSG101は、これまでの研究から、がん細胞株ごとに悪性度に対して全く正反対の機能を有する可能性があると考えられていたが、その詳細な分子機構については不明であった。

しかし、今回の私共の研究から、少なくともTSG101が転写レベルでMMP-9の発現を制御してがん細胞の浸潤能を制御していることが明らかになった。

さらに、このTSG101による転写レベルでのMMP-9の発現制御は、がん細胞株によって正反対に制御されることが明らかになった。

今回、データで示していないが、MMP-9の転写に関与するPMA刺激の下流経路であるERK、p38 kinase、JNK、PI3-K/Akt、NF-kBの活性化にはTSG101は関与していなかった。

また、MMP-9 mRNAの安定性にもTSG101は関与していなかった。

以上の事から、現時点では、TSG101がどのようにして転写レベルでMMP-9の発現を制御しているかは不明であり、今後この点を明らかにしていきたいと考えている。

【結 論】

TSG101はMMP-9の発現調整を介して細胞浸潤能を制御していると考えられると共に、その制御は腫瘍細胞株により促進的にも抑制的にも働き得ることが示された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

【論文概要】

腫瘍感受性遺伝子101 (TSG101) は最近、エクソソーム形成に関わるエンドソーム選別輸送複合体タンパク (ESCRT) の一つとして注目されている、エンドソーム輸送、転写制御、細胞成長に関与することが報告されているが、最初はNIH3T3マウス線維芽細胞において、癌抑制分子として発見された。しかし、その後の研究から、ある種の癌細胞株においては、逆に癌細胞の増殖能や運動能を亢進させていることが明らかになっており、現在TSG101は、異なる癌細胞株において、その悪性度に対して正反対の機能を有する可能性があると考えられている。しかし、癌細胞の悪性度に対するTSG101の機能と作用機構の詳細については明らかになっていない。本研究では癌細胞の悪性度の一つの指標である細胞浸潤能に着目し、間葉系細胞株としてHT1080細胞を、上皮系細胞株としてHeLaS3細胞を用いて腫瘍細胞の悪性度に対するTSG101の関与について検討した。TSG101の発現抑制により、両細胞株ともに細胞の増殖能、運動能には影響を受けなかった。しかし、細胞の浸潤能は、HT1080細胞では亢進し、HeLaS3細胞では逆に抑制された。更に、少なくともTSG101が転写レベルでMMP-9の発

現を制御して癌細胞の浸潤能を制御していることが明らかになった。このTSG101による転写レベルでのMMP-9の発現制御は、上皮細胞と間葉系細胞で正反対に制御されることが明らかになった。

【研究方法の妥当性】

申請論文では、腫瘍細胞株の腫瘍細胞の悪性度におけるTSG101の関与について検討し、確立された研究方法であるRNA干渉法、浸潤アッセイ、ゼラチンザイモグラフィ、RT-PCRなどを用いて複数の腫瘍細胞株におけるTSG101とMMPsの細胞内転写レベルから細胞内発現、細胞外分泌までの所見を解析している。適切な検討と客観的な統計解析を行っている、本研究で得られた結果は信頼性があり、データ解釈と得られた結論は適切かつ妥当である。

【研究結果の新奇性・独創性】

現在TSG101は、腫瘍細胞株ごとに悪性度に対して正反対の機能を有する可能性があると考えられている。しかし、腫瘍細胞の悪性度に対するTSG101の機能と作用機構の詳細については明らかになっていない。本研究では腫瘍細胞の悪性度の一つの指標である細胞浸潤能に着目し、間葉系細胞株としてHT1080細胞を、上皮系細胞株としてHeLaS3細胞を用いて腫瘍細胞の悪性度に対するTSG101の関与について検討し、その分子メカニズムの一部を解明した点において本研究は新奇性・独創性に優れた研究と評価できる。

【結論の妥当性】

申請論文では、複数の細胞株を用いて得られた研究結果を確立された統計学的解析方法を用いて、各細胞株のTSG101及びMMP-9抑制細胞とコントロール細胞の比較を行い、細胞の浸潤能、運動能、mRNAの発現量と細胞外分泌について検討している。そこから導き出された結論は論理的に矛盾するものではなく、また分子生物学など関連領域における知見を踏まえても妥当なものである。

【当該分野における位置付け】

申請論文では、間葉系のHT1080細胞株、U2OS細胞株及び上皮系のHeLaS3細胞株において、TSG101とMMP-9及び細胞浸潤能との関連を明らかにしている。腫瘍関連分子であるTSG101の腫瘍細胞における新たな機能を発現し、腫瘍の発生、進展さらに転移などのメカニズムについて今後更に検討をしていくために大変意義深い研究と評価できる。

【申請者の研究能力】

申請者は、消化器病学や分子生物学の理論と実践を学んだ上で、作業仮説を立て、実験計画を立案した後、適切に本研究を遂行し、貴重な知見を得ている。その研究成果は当該領域の国際誌へ掲載されており、申請者の研究能力は高いと評価できる。

【学位授与の可否】

本論文は独創的で質の高い研究内容を有しており、当該分野における貢献度も高い。よって、博士(医学)の学位授与に相応しいと判定した。

(主論文公表誌)

BMC Cancer 15 : 933, 2015