

審査の結果の要旨

氏名 デサメロ マークジョセフ マラナン
DESAMERO Mark Joseph Maranan

胃がんは、我が国においては患者数が漸減傾向にあるものの依然として重要な疾病であり、その原因解明や予防・治療法の開発が強く求められている。 α 1,4-*N*-アセチルグルコサミン (α GlcNAc) 転移酵素をコードする遺伝子 *A4gnt* を欠損 (KO) したマウスは、その分子機構は不明なものの、若齢時より胃粘膜の過形成が認められ、加齢に従って異形成を経て分化型胃癌を自然発症すること、ヒト患者において α GlcNAc の糖鎖構造を消失する事例が報告されていることから、有用な分化型胃癌の疾患モデル動物と考えられる。本研究では、*A4gnt* KO マウスを疾患モデルとして用いて2種類の農産物由来成分の機能性評価を行うとともに(第1、2章)、分化型胃癌発症の分子機構を解明すべく、候補遺伝子をゲノム編集により KO させたマウスを新たに作出し、その表現型を解析している(第3章)。

第1章においては、申請者は海藻由来の機能性成分として知られている可溶性 β グルカンに注目し、アラメ由来のラミナランを用いて検討した。前がん状態の異形成のステージの *A4gnt* KO マウス (12 週齢) に対して、ラミナランを3週間、毎日 100mg/kg の用量で経口投与を行ったところ、コントロールの溶媒のみ投与群と比較して、胃粘膜肥厚や多核白血球の浸潤が抑制され、粘膜上皮細胞の増殖および血管新生の減少が認められた。また、サイトカインやケモカインなどの遺伝子発現にも変化が認められた。その中でも抗炎症性サイトカイン IL-10 が、粘膜上皮細胞において発現誘導されていることを見出した。これらの結果から、可溶性 β グルカンは前がん状態の胃粘膜異形成の進展を抑制する作用を持つと結論付けた。海藻類を日常的に摂取することが胃がんの予防に繋がる可能性を科学的に示したと評価できる。

続いて第2章においては、フィリピン固有種のハリナシミツバチから得られるプロポリスに注目し、その抗腫瘍効果について、ヒト胃癌細胞株および *A4gnt* KO マウスを用いて評価を行った。まず、*in vitro* 実験において、分化型胃癌の性質を持つ3種の細胞株に対してのみ、プロポリスによる強い増殖抑制が見られた。このとき、細胞周期の G1 期停止の指標となる p21(CIP1/WAF1)の強い発

現増加が認められた。次に *A4gnt* KO マウスを用いた *in vivo* 検討実験を行った。分化型胃癌を自然発症したステージ (60 週齢) の *A4gnt* KO マウスあるいは同週齢の野生型マウスに対して、100mg/kg 体重の用量でプロポリスを 30 日間毎日経口投与した。プロポリスを摂取した *A4gnt* KO マウスの胃癌は対照と比較して退縮しており、胃粘膜上皮の肥厚の程度が有意に減少し、病変局所での有意な増殖細胞の減少が認められた。加えて、*in vitro* 実験の結果と同様に p21 分子を発現する細胞の有意な増加が認められた。これらの研究結果から申請者は、フィリピンプロポリスは分化型胃癌においては細胞周期を G1 期停止に誘導することにより癌細胞の増殖を低下させ、病態進行を効果的に抑制しうることを示した。

最後に第 3 章においては、分化型胃癌発症の分子機構の解明を目指して、網羅的遺伝子発現解析のデータを精査し、ガレクチンファミリーに注目した。そして、定量 PCR による遺伝子発現解析と免疫染色による病理組織学的解析から、その中でも特に *Lgals4* 遺伝子にコードされるガレクチン 4 が病態形成に関与する可能性が高いことを見出した。そこで新たにゲノム編集法により *A4gnt/Lgals4* DKO マウスを樹立し、その表現型解析を行った。異形成～高度異形成ステージ (10、30 週齢) では大きな違いは見出されなかったものの、分化型胃癌発症ステージ (50 週齢) では *A4gnt/Lgals4* DKO マウスで有意に病態形成が軽減することがわかった。このとき、胃癌細胞における増殖因子の可能性が示唆されていたサイトカイン IL-11 の発現低下が認められたことから、*A4gnt* KO マウスでの分化型胃癌における役割を明らかにするため、ゲノム編集法により *A4gnt/Il11* 二重 (D) KO マウスの作出を行った。想定通り *Il11* の欠損により分化型胃癌形成の抑制が認められた。加えて、IL-11 の下流シグナル因子でがんとの強い関連が報告されている STAT3 の活性化が、*A4gnt/Lgals4*、*A4gnt/Il11* DKO マウスで認められることを見出した。これらの結果から、申請者はガレクチン 4・IL-11・STAT3 軸という新しいコンセプトを提唱し、この分子機構が分化型胃癌発症に極めて重要な役割を担っている可能性を示した。

これらの研究成果は、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士 (獣医学) の学位論文として価値あるものと認めた。