

審査の結果の要旨

氏名 安西 高廣

本論文は第1章の序論、第6章の総括を含め、全6章で構成されている。

第1章ではまず、大腸がんの治療法および使用されている分子標的薬について概説している。これら分子標的薬のターゲットである VEGF や VEGFR、EGFR は正常細胞でも発現しており、副作用の問題が依然として残っている。この問題解決のため、論文提出者所属研究室において、正常粘膜上皮細胞と大腸がん細胞との遺伝子発現比較解析を行うことで、真に大腸がん細胞で特異的に高発現する膜タンパク質の1つとして機能未知分子 TMEM180 を見出したという経緯が述べられている。また、同研究室において抗 TMEM180 ラット IgM モノクローナル抗体の樹立に成功している。これらの研究背景から、抗 TMEM180 抗体の臨床応用のための基礎研究および TMEM180 の分子機能解明を研究目的としたことが述べられている。

第2章では、樹立した抗 TMEM180 ラット IgM 抗体の精製法の確立を行っている。また抗 TMEM180 ラット IgM 抗体遺伝子のクローニング、ヒトキメラ化抗体への改変を行っている。残念ながら IgM と比較してキメラ IgG 改変抗体は活性が下がってしまう問題が残った。考察では所属研究室でヒト化 IgG 抗体への改変に成功したことが述べられており、KRAS 変異を持つより臨床に近い患者由来腫瘍モデルマウスに対する抗腫瘍効果について述べられている。

第3章ではまず、機能未知である TMEM180 について、マイクロアレイや次世代シーケンスの公共データを基にした解析を行い、がん特異性の高い分子であることを示している。さらに、TMEM180 の大腸がん細胞における発現に着目し、プロモーター領域に低酸素に応答するエレメント様配列が10か所あることを発見、実験で低酸素環境下で発現亢進する分子であることを明らかにしている。また、TMEM180 の遺伝子のノックダウン細胞を樹立し、増殖抑制が起こっていることを示している。これらの細胞を用いてオミクス解析を実施し、TMEM180 はリン酸化シグナルに差はないものの、代謝と何らかの関連があることを見出している。

第4章では、TMEM180 タンパク質に着目し、トポロジーの解析と細胞内局在について述べられている。2次構造予測からメリビオーストランスポーター MelB との構造類似性を見出し、ホモロジーモデルを構築している。配列解析から、TMEM180 のカチオン結合部位が種間で保存されていることも見出している。また、細胞免疫染色および膜透過処理の有無によって N、C 末端側ともに細胞外に露出していることを明らかにするとともに、12回膜貫通型タンパク質であることを証明している。さらに、細胞内局在解析を行い、意義やメカニズムは不明ではあるものの、TMEM180 がゴルジ体にも局在することを示している。

第5章では、Tmem180 ノックアウトマウスが胎生致死、新生児致死ではないことが述べられている。また10週齢においては野生型マウスと明確な差異は認められず、妊孕性にも問題がないことが示されている。メタボロミクス解析を実施し、Tmem180 は代謝と何らかの関連があることを見出している。さらに公共マイクロアレイデータの解析から胚盤胞で Tmem180 の発現が高いことを発見し、実際に実験で証明している。

第 6 章では総括として、TMEM180 の分子機能を考察している。正常細胞ではほとんど発現せず、がん細胞で再び発現亢進するような、いわゆるがん胎児性抗原である可能性があることも述べられている。また、今後の解析方針について、基質探索が重要であると認識しており、電気生理学などの具体的なアプローチについても言及している。

TMEM180 は全く既報のない機能未知分子であり、未解明な点は多数残っているものの、本論文に記載された基礎データは、いずれも TMEM180 の機能解明において重要な知見であると考えられる。また、抗体についても臨床応用に向けた検討が進行しており、これらは論文提出者の行った抗体の解析と改変の基礎実験が基となって得られた結果であることから、論文提出者の貢献は十分であるといえる。

なお、本論文の第 3 章の一部は論文提出者所属研究室の安永正浩博士、西條信史博士、花岡慎悟博士、津村遼博士、松村保広博士との共同研究であるが、本論文に記載したデータは論文提出者が分析および検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。また、本論文の第 4 章の一部は松村保広博士との共同研究であるが、本論文に記載したデータは論文提出者が分析および検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、本論文は博士（生命科学）の学位請求論文として合格と認められる。

以上 1963 字