

# 審査の結果の要旨

氏名 張 明奎

本論文は4章からなり、第1章ではタンキラーゼと呼ばれるポリ(ADP-リボシル)化酵素の阻害剤による c-KIT チロシンキナーゼの発現抑制、第2章ではタンキラーゼ阻害剤による c-KIT の発現抑制に対する Wnt シグナル抑制因子 AXIN2 の寄与、第3章ではタンキラーゼ阻害剤による c-KIT 遺伝子発現の抑制、第4章では AXIN2 から c-KIT に至る分子経路について述べられている。

本論文の背景として、腫瘍内の不均一ながん細胞集団のなかで、がん幹細胞と呼ばれる亜集団は高い自己複製能と造腫瘍性を有し、抗がん剤や放射線に抵抗性を示すため、がんの再発の一因とされている。論文提出者は自身の修士課程の学位研究において、ヒト大腸がん COLO-320DM 細胞のうち CD44 という膜タンパク質の発現が陽性の細胞亜集団（以下、CD44 陽性細胞）ががん幹細胞性を示すことを見出し、CD44 陰性細胞よりも陽性細胞の増殖を強く阻害する化合物としてタンキラーゼ阻害剤を同定した。タンキラーゼ阻害剤は大腸がんのドライバー経路である Wnt/ $\beta$ -カテニンシグナルを抑制することで大腸がん細胞の増殖を抑制するが、CD44 陽性がん幹細胞に対する効果が特に強い理由は不明であった。

本論文の第1章では、構造の異なる様々なタンキラーゼ阻害剤が複数のヒト大腸がん細胞株における CD44 陽性率を低下させることを示したうえで、CD44 陽

性細胞で過剰発現している因子としてがん遺伝子産物 **c-KIT** に着目している。論文提出者は、タンキラーゼ阻害剤が **c-KIT** の発現を mRNA およびタンパク質のレベルで低下させること、さらに、**CD44** 陽性細胞は **CD44** 陰性細胞と比べてイマチニブなどの **c-KIT** 阻害剤あるいは **c-KIT** 遺伝子のノックダウンに対して高い感受性を示すことを見出している。また、セルソーティング、ゲノム編集を用いた検討により、**CD44** 陽性 **COLO-320DM** 細胞の造腫瘍性には **c-KIT** が必要であることを見出している。これらの結果は、**CD44** 陽性 **COLO-320DM** 細胞の生存増殖およびがん幹細胞性には **c-KIT** が関与し、タンキラーゼ阻害剤は **c-KIT** の発現を低下させることで **CD44** 陽性細胞の増殖を強く抑制することを示している。

第2章では、タンキラーゼ阻害剤による **c-KIT** の発現低下は **Wnt/β-カテニン** 経路の負の制御因子 **AXIN2** の蓄積に依存することが述べられている。タンキラーゼ阻害剤の薬理効果として、**AXIN2** のポリ(ADP-リボシル)化とそれに伴う分解が阻害されるため、**AXIN2** の蓄積が生じる。論文提出者は、この **AXIN2** の蓄積を **siRNA** によって抑制することで、タンキラーゼ阻害剤による **c-KIT** の発現低下と細胞増殖阻害が起こらなくなることを見出している。一方、**β-カテニン** のノックダウンによる細胞増殖抑制は、**CD44** 陽性細胞と陰性細胞で同等に生じた。これらの結果から論文提出者は、**CD44** 陽性細胞に対するタンキラーゼ阻害剤の選択的効果は **AXIN2** に依存する一方で、**β-カテニン** の分解とは異なる機構で生じると推定している。

第3章では、タンキラーゼ阻害剤による **c-KIT** の発現抑制機構として、**c-KIT** 遺伝子プロモーター領域から転写因子 **SP1** が遊離し、**c-KIT** 遺伝子の発現が低下

することが述べられている。この現象は上述の AXIN2 の蓄積に依存するかたちで生じること、タンキラーゼ阻害剤は c-KIT の mRNA やタンパク質の安定性には影響を与えないことが確認されている。このように、タンキラーゼ阻害剤が Wnt 経路の負の制御因子の働きを増強することで、がん幹細胞性に寄与するチロシンキナーゼの働きを遮断するという知見は斬新である。

第4章では、大腸がん細胞にタンキラーゼ阻害剤を処理した際に、SP1 の機能制御に働く可能性のある因子について述べられている。論文提出者はインシリコのパスウェイ解析により、AXIN2 と SP1 の間の機能介在候補因子としてヌクレオリンに着目し、タンキラーゼ阻害剤が SP1 とヌクレオリンの複合体形成を抑制することを見出している。この現象の機能的意義についてはさらなる検証が必要であるものの、AXIN2 の新たな分子機能を示唆する知見である。

以上のように、本論文は大腸がん幹細胞ががん幹細胞性を維持する分子機構に加えて、タンキラーゼ阻害剤の新規用途を提示しており、進行性大腸がん克服のための基盤的成果として、大きな学術的意義が認められる。

なお、本論文は、東京大学 清宮啓之客員准教授、および公益財団法人がん研究会 馬島哲夫主任研究員との共同研究であるが、論文提出者が主体となって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。

よって本論文は博士（医科学）の学位請求論文として合格と認められる。