

論文の審査の結果の要旨

氏名 平岡 巧士

本論文は 5 章からなる。第 1 章は、イントロダクションであり、本論文の背景である癌幹細胞と癌幹細胞マーカーLGR5について述べられている。癌幹細胞は、腫瘍の中に存在する幹細胞様の性質を示す癌細胞で、癌の発症、転移、再発に重要である可能性が示されており、癌治療における重要な標的と考えられている。従って、癌幹細胞の造腫瘍性に重要な遺伝子を探索することは新たな癌治療の開発につながると期待される。本論文では造腫瘍性に重要な遺伝子探索の指標として癌幹細胞マーカーLGR5 が用いられている。LGR5 は、癌幹細胞の造腫瘍性に重要な Wnt signal の促進に寄与するため、本研究で行う遺伝子探索において重要な指標となると考えられる。

第 2 章では本論文において用いられた実験手法について述べられ、第 3 章ではその実験結果が述べられている。第 3 章前半部分では、ヒト検体由来のグリオブラストーマ幹細胞を用いて造腫瘍性に重要な遺伝子の探索を行い、癌幹細胞マーカーLGR5 の発現を制御する転写因子をコードする SOX9 遺伝子を同定している。さらに、*in vitro* の実験により SOX9 の発現を抑制することによってグリオブラストーマ幹細胞の増殖能及びスフィア形性能が抑えられることが示され、*in vivo* の実験で造腫瘍能が低下することが示されている。SOX9 は検体の発現を調べた研究から発現量と予後に相関があることが報告されているが、グリオブラストーマ幹細胞の造腫瘍性に関与するという事実は本研究で初めて得られた知見である。第 3 章後半ではヒト大腸癌検体由来の大腸癌幹細胞を用いたスクリーニングを行うことで、造腫瘍性に重要な遺伝子として non-coding RNA (ncRNA) をコードする遺伝子 LOC332 を同定している。LOC332 の発現を抑制することで大腸癌細胞の造腫瘍能が抑えられることが *in vitro* と *in vivo* の実験で示され、LOC332 の機能解析を目的とした実験により ncRNA LOC332 がスプライシング因子 SRSF1 に結合しその活性を制御する可能性が示唆された。SRSF1 は標的となる遺伝子の選択的スプライシングを制御することによりアポトーシス抑制や細胞増殖亢進に寄与するアイソフォームを生成することが報告されている癌遺伝子であり、LOC332 は SRSF1 を介して造腫瘍性を制御している可能性があると考えられた。また、本研究では SRSF1 の選択的スプライシングの標的として BIN1 のアイソフォームの変化を観察し、LOC332 の発現抑制により BIN1 が造腫瘍性の抑制に働くアイソフォームが発現することを示した。この結果から、LOC332 が SRSF1 と結合して BIN1 の選択的スプライシングに影響することにより大腸癌の造腫瘍性に寄与する可能性があると考えられた。本研究により、機能未知であった LOC332 が SRSF1 の選択的スプライシ

ング活性を制御し、大腸癌の造腫瘍性に寄与している可能性が初めて示された。

第4章では、第3章で述べられた研究結果についての考察が述べられている。SOX9 がグリオブラストーマ幹細胞特異的に LGR5 の発現を制御している分子メカニズム及び LOC332 が SRSF1 のリン酸化を介して活性を制御する分子メカニズムについて詳細に考察され、さらに本研究が、未だに未解明の部分が多い LGR5 の転写制御系や SRSF1 の選択的スプライシング制御系の解明につながる可能性が指摘されている。

第5章では第1章から第4章を通しての結論が述べられている。本研究で同定された癌幹細胞の造腫瘍性に重要な遺伝子の産物は、それぞれ LGR5 の発現や SRSF1 の活性を制御することから、SOX9 と LOC332 が新たな大腸癌治療薬の有望なターゲットに成り得ることを提示した重要な研究となっている。なお、本論文は川崎善博、林寛敦、金子龍介、那須亮、西村教子、秋山徹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。

従って、博士（理学）の学位を授与できると認める。