論文審査の結果の要旨

氏名　平松　寛明

本論文は 7 章からなる。第 1 章は、イントロダクションであり、前半部にはグリオブラストーマ及びグリオーマ幹細胞について、それらの基本的な性質や、本研究に用いられた 3 種のグリオーマ幹細胞の諸性質、さらにグリオーマ幹細胞とエピジェネティクスとの関連を示す欧米の研究者による研究背景が述べられている。後半部には SWI/SNF 複合体と本論文提出者の所属研究室において機能が同定された d4 ファミリータンパク質について、本研究の研究背景となる先行研究の紹介があり、最後に本研究の研究目的について述べられている。

第 2 章は実験結果であり、SWI/SNF 複合体に結合する因子のうち特に DPF1、DPF3 がグリオーマ幹細胞の幹細胞性の維持に重要な役割を果たすことについて述べられている。3 種のグリオーマ幹細胞を用いて、血清によって分化を誘導する前後で共通して発現の変動する SWI/SNF 複合体構成遺伝子および共役因子について qRT-PCR 法によって網羅的に調べた結果、d4 ファミリー遺伝子の発現量と幹細胞性に相関が見られることが示されている。次に、shRNA を用いたノックダウン実験、並びにレスキュー実験を行い、グリオーマ幹細胞のスフィア形成能を指標として d4 ファミリー遺伝子と幹細胞性との因果関係について調べ、DPF1 と DPF3a について確かに幹細胞性と深く関わっていることが示されている。さらに、マウス同所移植実験モデルを用いて DPF1 または DPF3a のノックダウンにより生存期間が有意に延長することについても示されている。レスキュー実験における優位性及びマウス同所移植実験における生存期間の劇的な延長から、特に DPF1 について幹細胞性との関わりが強い可能性についても述べられている。また、SWI/SNF 複合体の触媒サブユニットである BRG1 と Brm については、お互いを機能的に相補できることも示されている。SWI/SNF 複合体及び d4 ファミリーとグリオーマ幹細胞の幹細胞性との関連についてこれまでに報告された例は無く独創的であり、この点は非常に高く評価できる。

次に DPF1、DPF3a の機能について、これまでに報告されてきた NF-κB の経路とは無関係なものである可能性について述べられている。本論文提出者はグリオーマ幹細胞中では DPF1、DPF3a が NF-κB 以外の別のタンパク質と複合体を形成している可能性を考えて研究を進め、特に DPF1 については SWI/SNF 複合体と TLX、LSD1 を含む複合体を連結するアダプターとして機能していることが示されている。SWI/SNF 複合体と TLX、LSD1 を含む複合体との結合はこれまで報告されていない新規複合体である。この過程で共免疫沈降

法では検出の難しい核内の巨大な複合体をPLA法という比較的新しい手法を導入して固定した細胞内で検出し、DPF1 のアダプター機能についても実証したことは大変評価できる。

第3章には第2章で得られた結果に対する考察が述べられており、第4章には本論文で用いた実験手法、第5章には謝辞、第6章には引用文献、第7章には本論文で用いた図及び表が記されている。

本論文において得られた知見は、グリオーマ幹細胞の幹細胞性におけるSWI/SNF複合体及びd4ファミリータンパク質の重要性を示すのみにとどまらない。特に、本研究において同定された巨大な複合体はグリオーマ幹細胞を標的とした薬剤の新規ターゲット分子として極めて重要であることから、今後、この複合体形成を阻害するという新たな治療戦略がグリオーマ幹細胞の抑制につながるものと期待される。特にアダプターである DPF1 の結合を阻害することにより、グリオーマ幹細胞のみを特異的な標的とできる可能性もある。こうした新しい知見は、今後新規薬剤候補となる小分子化合物の同定においても非常に重要な分子基盤を与えると考えられ、基礎研究と応用研究をつなぐ意義深いものである。

なお、本論文第2章は、小林和善、小林郷介、原口健、稲生靖、藤堂具紀、伊庭英夫との共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験、解析及び検証を行ったものであり、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。