

# 論文審査の結果の要旨

氏名 藤友 崇

本論文は1章からなり、肺癌における新規治療標的分子である TMEM209 の同定とその機能解析について述べられている。

本研究では、近年本邦において全悪性新生物による死亡者数が第1位である肺癌に対する新規治療法開発のための標的分子を同定すること、その分子の肺癌における機能を明らかにすることを目的としている。

RT-PCR 法、ノーザンブロット法を用いて肺癌臨床検体及び細胞株における TMEM209 の発現上昇と正常臓器における低発現を確認している。また、TMEM209 に対する特異的なポリクローナル抗体を用いたウェスタンブロットも行っており、肺癌細胞株におけるタンパク質レベルでの TMEM209 の発現上昇も確認している。正常臓器では精巣での発現が認められるが、その他の重要臓器での発現が極めて低い事から、TMEM209 を標的とした治療薬開発において副作用を最小限に抑えられる事が期待できる。また、肺癌細胞株を用いた細胞免疫染色では、TMEM209 は主に核膜とゴルジ、そして弱く細胞質に局在している事を見出している。

次に TMEM209 と肺癌細胞増殖への関連について small interfering RNA (siRNA) 導入による発現阻害実験を行っている。TMEM209 の mRNA 配列に特異的な 19 塩基の siRNA を導入すると、TMEM209 の発現抑制と共に G1 population の増加を認め、肺癌細胞の増殖が阻害されることが明らかとなった。一方 TMEM209 を過剰発現させた細胞においては、細胞増殖能の亢進を確認している。これらの結果は、TMEM209 の発現が癌細胞の増殖・生存に必須であり、TMEM209 の機能阻害によって肺癌細胞の増殖を抑制できる可能性が示唆された。

細胞増殖に関する TMEM209 の肺癌における機能解析を目的として、TMEM209 の相互作用タンパク質の同定を試みている。免疫沈降と質量分析を組み合わせた手法により、TMEM209 の相互作用タンパク質として Nucleoporin 205 kD (NUP205) を同定した。NUP205 の肺癌臨床検体及び正常臓器における発現を TMEM209 と同様の手法で検討しているが、NUP205 は TMEM209 と同様に肺癌で発現上昇し、正常臓器での発現は極めて低い事を確認している。次に TMEM209 の NUP205 への作用を検討するために、TMEM209 に対する siRNA を導入し、サイクロヘキシミド(タンパク質合成阻害剤)存在下で発現抑制を行ったところ、NUP205 タンパク質が急速に減少している事が確認された。これらのことから、TMEM209 は NUP205 のタンパク質レベルでの安定化に寄与することが示唆された。

さらに TMEM209-NUP205 の複合体が転写因子 c-Myc への核移行に関わる可能性について検討した。NUP205 は核膜孔に局在し、c-Myc と相互作用することが報告されてい

るが、NUP205 と c-Myc の相互作用は免疫沈降-ウェスタンブロット法で再確認している。TMEM209 あるいは NUP205 に対する siRNA を導入し、MG132(プロテアソーム阻害剤)存在下でそれぞれの遺伝子の発現抑制を行ったところ、細胞内全体の c-Myc タンパク質量は変化が無かったが、細胞質の c-Myc は増加し、核内の c-Myc は減少している事を確認した。また、TMEM209 に対する siRNA を導入したところ、c-Myc の標的遺伝子で細胞周期に関わる遺伝子である CDC25A や CDK1 の発現が低下している事を確認した。これらのことから、TMEM209-NUP205 の複合体が c-Myc の核移行に関わり、c-Myc による転写調節を間接的に制御する事が示唆された。以上、本研究において肺癌で発現上昇し、肺癌の増殖に重要な TMEM209 を同定し、その機能解析として NUP205 と相互作用する事、その相互作用が c-Myc の核移行を制御している可能性が示された。これらの事から TMEM209 の発現を阻害する、あるいは TMEM209 複合体の機能阻害を標的とする事により肺癌細胞において特異的に c-Myc の核移行を阻害し、腫瘍の増殖を抑制する分子標的治療薬の開発に繋がる事が示唆された。

なお、本論文は醍醐 弥太郎、松田 浩一、植田 幸嗣、中村 祐輔との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及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、博士(生命科学)の学位を授与できると認める。