

## 論文審査の結果の要旨

氏名 越前 佳奈恵

膠芽腫検体由来の細胞を無血清培地を用いて培養すると、血清添加培養を行った既存の膠芽腫細胞株と比べて、より実際の膠芽腫組織における腫瘍細胞に近い遺伝子発現パターンを維持したまま継代培養することが可能である。本論文前半では、膠芽腫検体由来の無血清培養細胞株を用いることで、従来の血清培養膠芽腫細胞株を用いたスクリーニングでは標的とならなかった因子に対する抗がん剤の開発を目的として行った基礎研究の結果について述べられている。後半では、前半で同定された分子に結合するタンパク質の取得と機能解析の結果について述べられている。

膠芽腫検体由来細胞は、無血清培養を行うと高い腫瘍形成能を維持することが可能であるが、血清培地を用いて培養すると、腫瘍形成能が著しく低下することが報告されている。本論文では、膠芽腫細胞の腫瘍形成能維持に関わる因子を同定する目的で、無血清培地及び血清添加培地を用いて培養した膠芽腫検体由来細胞の遺伝子発現パターンを比較して、無血清培地で培養した細胞において特に高い発現を示す遺伝子を膠芽腫の腫瘍形成能に関わる因子の候補として同定し、この中でも膜タンパク質である PCDH10 に着目して解析を行っている。

本論文前半部分では膠芽腫検体由来細胞を用いた解析を行い、PCDH10 の発現抑制によって膠芽腫細胞の増殖が抑制されることを *in vitro* 及び *in vivo* で示している。PCDH10 は接着因子として同定され、アクチン骨格制御に関与して細胞運動を制御することが報告されているが、細胞増殖に関与するという事実は本研究で新たに得られた知見である。膠芽腫は標準治療を行った場合でも生存期間中央値が 1 年半前後であり、新規抗がん剤の開発が重要な課題となっているが、PCDH10 は抗体医薬の開発の新規ターゲットとなりうると期待される。

本論文後半部分では、PCDH10 の機能を分子レベルで明らかにする目的で、新規相互作用因子の探索を行っている。本研究では、PCDH10 に対する新規結合因子として、ユビキチンライゲース複合体に含まれる KLHL20 を同定し、PCDH10 がこの複合体によって、ポリユビキチン修飾を受ける基質となり得ることを示している。また、内在性の KLHL20 の発現抑制に

よって、PCDH10 のエンドサイトーシスが抑制され、細胞膜上に存在する PCDH10 のタンパク質量が増加すること、PCDH10 と KLHL20 を共発現すると、細胞接着部位に存在する PCDH10 のタンパク質量が減少すること、ユビキチン修飾部位の変異体ではこのフェノタイプが見られないことから、KLHL20 複合体によるポリユビキチン修飾によって、PCDH10 の細胞内局在が制御されていることを明らかにした。KLHL20 の発現抑制によって細胞頭頂部側の細胞間接着部位に PCDH10 タンパク質が濃縮してくるが、この部分は古典的カドヘリンである E-cadherin や N-cadherin によって構成されるアドヘレンスジャンクションが多数存在する細胞底面部とは異なる部位であること、KLHL20 の発現抑制によって古典的カドヘリンのタンパク質量や局在とは独立して PCDH10 依存的に細胞間結合力が増大することを示している。このことは、従来細胞間接着で重要視されてきた、古典的カドヘリンによる細胞間接着とは異なる、細胞間接着制御因子の存在を示唆している。さらに、本論文の最終部ではこれらの PCDH10 に対するポリユビキチン修飾が Ab1 チロシンキナーゼによって亢進することを示している。チロシンキナーゼは成長因子などの下流で活性化されることが広く知られていることから、この結果は PCDH10 に対するポリユビキチン修飾が、外的因子によってダイナミックに制御されていることを示唆していると考えられる。接着因子に対する細胞内での局所的なタンパク質量制御はいまだに未解明の部分が多く、ポリユビキチン修飾によって、細胞頭頂部で局所的かつ一過的に PCDH10 のタンパク質量が増加し、細胞間接着が変化することを明らかにした点は、ダイナミックな細胞間接着の制御を解明する上で、新たな知見であると考えられる。

なお、本論文前半部分は、中田光俊、林寛敦、Hemragual sabit、古田拓也、中井美雪、那須亮、西村教子、谷上賢瑞、森下保幸、平野伸二、寺井健太、藤堂具紀、稲生靖、武笠晃武、高柳俊作、大谷亮平、斉藤延人、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。

以上のことから、論文提出者は、生物化学について博士（理学）の学位を受けるにふさわしい十分な学識をもつものと認め、審査委員全員により合格と判定した。