

論文審査の結果の要旨

氏名 仁科 隆史

膵癌は悪性度が高く、非常に予後の悪い癌である。このことから、癌悪性化の分子機構を詳細に解析することは、治療法創出の観点から非常に重要である。

過去の報告より、転写因子 NF- κ B の恒常的活性化が癌悪性化に関与しているが示唆されている。NF- κ B は(p105/p50、 p100/p52、 p65、 c-Rel、 RelB)からなるファミリータンパク質で、ホモあるいはヘテロ二量体を形成して働く。NF- κ B の活性化分子機構には主に2つの経路があり、1つは古典的経路、もう1つは非古典的経路がある。古典的経路は主に、p65-p50の活性化を誘導する経路である。また、非古典的経路は、p100の部分分解を誘導し、不活性型の p100-RelB を、活性型の p52-RelB とする経路である。

通常の細胞では、様々な刺激に応じて NF- κ B の活性化は一過性になるよう制御されているが、膵癌細胞では恒常的に活性化している。今までの研究では古典的経路を中心に解析されてきたが、膵癌細胞において、非古典的経路が恒常的に活性化しているのか、またその活性化が悪性化に関与しているのかは不明である。

本研究は、未だ明らかにされていない膵癌細胞における NF- κ B 非古典的経路の恒常的活性化の有無を検証し、その活性化の分子機構と悪性化への関与を究明することを目的とした。

本研究は膵癌細胞株8種を用いて検証した。まず NF- κ B 非古典的経路の恒常的活性化の有無を検証するために、膵癌細胞を細胞質画分と核画分とに分画し、非古典的経路が活性化の指標である、p52 と RelB の核移行をウェスタンブロッティングにより評価した。その結果、すべての膵癌細胞株において、p52、 RelB が核にも局在していた。

次に、非古典的経路の恒常的活性化分子機構を解析するために、通常の細胞でこの経路の活性化に関与するキナーゼ NIK に着目し、その発現量をタンパク質、mRNA レベルで解析した。NIK のタンパク質量を調べた結果、全ての細胞株で発現し、一部の膵癌細胞株(PANC-1、PK-1、KP-1N)で高発現していた。また、NIK mRNA 量は NIK のタンパク質量と相関していた。

膵癌細胞における非古典的経路恒常的活性化への NIK の関与を明らかにするために、siRNA を用いて NIK の発現を抑制し、その影響を p52 の産出

と p52、RelB の局在変化を指標に評価した。その結果、p52 の産出量が減少し p52、RelB の核局在量が著しく減少していた。

最後に、NIK の癌悪性化への関与を検討するために、siRNA により NIK の発現抑制しその影響を膵癌細胞の増殖への影響を指標に、解析した。その際、siRNA による影響が、標的分子以外の遺伝子発現抑制による効果であることを否定するために、siRNA の標的塩基配列に siRNA に耐性になるようサイレント変異を加えた変異型の NIK を安定発現させた細胞株と野生型の NIK を発現させた細胞株を樹立した。そして、これらの細胞株に siRNA 処理をし、6 日後に生細胞数を計測した。その結果、空ベクターを発現させた細胞株や NIK の野生型を発現させた細胞株では、NIK の発現抑制により細胞増殖率の減少がみられたが、変異型の NIK を発現させた膵癌細胞株ではその影響はみられなかった。また、NIK を安定発現させている細胞では、発現させていない細胞に比べて細胞増殖率が亢進している傾向がみられた。これらの結果から、膵癌細胞において NIK は細胞増殖に関与していることがわかった。

膵癌細胞において非古典的経路を介して NF- κ B が恒常的に活性化していることを明らかにした。特に、8 種の癌細胞株のうち PANC-1、PK-1、KP-1N において RelB、p52 が多く核に局在していた。これら細胞群での NF- κ B の核局在量は、NIK mRNA 量と相関することから、膵癌細胞において比較的高く NIK が発現している結果、膵癌細胞において非古典的経路を介した NF- κ B の恒常的活性化が亢進されているのではないかと考えられた。NIK の脱制御が多く癌で悪性化に関与していることが報告されてきている。今回得られた知見から、膵癌においても NIK を中心とする非古典的経路の活性化の抑制は、新たな治療の標的であると考えられた。

なお、本論文は、山口憲孝、合田仁、仙波憲太郎、井上純一郎との共同研究であるが、論文提出者が主体となって検証したもので、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。