

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 吉濱陽平

細胞極性は非対称性分裂や、神経細胞の軸索形成、方向性を持った細胞運動など多様な生命現象に関わる。上皮細胞は体外と体内を区分する役割を有し、基底膜に接する基底部（ベーサルドメイン）、体外方向に接する頂端部（アピカルドメイン）、細胞間部位に面する側方部（ラテラルドメイン）という構成する脂質やタンパク質成分が異なる3つの細胞膜ドメインを有する高度に極性化した細胞である。極性の崩壊が細胞の過増殖を引き起こし、がん化の一因となるものと考えられている。最近、上皮細胞の極性を形成・維持する分子である partitioning defective (PAR) タンパク質群と atypical protein kinase C

(aPKC) の複合体 (PAR-aPKC 複合体) の役割が注目されているが、aPKC の活性を制御する分子メカニズムについては不明な点が多い。本研究では、新たに aPKC に結合するタンパク質 KIBRA に着目し、上皮細胞極性制御機構を解明するとともに、がんにおける KIBRA-aPKC 経路の重要性を明らかとすることを目的としている。本論文は序論、第一章 KIBRA によるアピカルドメイン形成制御機構、第二章 KIBRA の発現量と胃がん臨床病理学的因子との相関、総合討論から成る。

序論に続き、第一章ではイヌ腎臓由来培養上皮細胞である MDCK 細胞を用いて KIBRA の極性形成への関与を検討した。KIBRA は PAR3、PAR6、aPKC と複合体を形成し、上皮細胞のアピカルドメインおよび密着結合部位に局在した。KIBRA の発現を安定的にノックダウンした細胞はコラーゲンゲル中でアピカル膜が拡張したシストを形成し、細胞内に vacuolar apical compartment (VAC) が形成されなかった。ノックダウン細胞はアピカル膜のエンドサイトーシスには影響されず、KIBRA がアピカル膜のエキソサイトーシスの制御を介して上皮極性を制御することを明らかにした。

続いて、ノックダウン細胞に対して野生型 KIBRA あるいは aPKC 結合領域を欠損し aPKC 阻害活性を持たない Δ C-KIBRA を回復 (レスキュー) 発現させた細胞を樹立した。

KIBRA をレスキューすると、シスト形成時のアピカルドメインの拡張が抑制されたが、 Δ C-KIBRA のレスキューでは抑制効果が低かった。また、aPKC 阻害剤の添加によってレスキューされることから、KIBRA は aPKC を阻害してアピカルドメイン形成を制御することを示した。さらに、野生型 MDCK 細胞に KIBRA の aPKC 結合部位を過剰発現すると、密着結合形成の抑制や VAC 形成の促進といった aPKC 阻害と類似した表現型がみられた。これらのことから、KIBRA はアピカルドメイン及び密着結合で aPKC と結合して抑制し、アピカル膜タンパク質のエキソサイトーシスを抑えることで上皮極性を維持する新規上皮極性制御機構の存在を明らかにした。

第二章では、aPKC 発現量と臨床病理学的因子との相関が明らかとなっている胃がん検体を用い、KIBRA のタンパク質発現量について解析した。KIBRA の発現は aPKC の発現と正の相関をみとめ、KIBRA の高発現と血管浸潤、リンパ管浸潤に正の相関関係を示した。KIBRA 単独の発現量に予後不良との相関はないが、aPKC 低発現/KIBRA 高発現群で予後不良となる結果を得た。さらに低分化型のがんの中で aPKC 低発現/KIBRA 高発現の群は脈管浸潤を起こす頻度が高い傾向がみられた。これらの結果は、低分化型のがんにおいて aPKC の発現低下とともに、aPKC 阻害因子である KIBRA の発現が高まると、細胞間接着の崩壊などを介して脈管浸潤が亢進し予後が悪化する可能性を示している。

総合討論では、KIBRA-aPKC 経路の極性形成、小胞輸送、およびがんにおける重要性を論じている。KIBRA-aPKC 経路が、普遍的に小胞輸送の制御に関わる可能性を示し、細胞極性の破綻ががん化の一端を担うことから、予後予測や抗がん剤開発へ応用される可能性を論じている。

以上、本論文は KIBRA が aPKC 活性の阻害を介してアピカル膜タンパク質のエキソサイトーシスを抑制し、アピカル膜の形態を維持することを明らかにした。さらに胃がんでの aPKC の発現低下と共に KIBRA の発現が上昇すると低分化型のがんの脈管への浸潤が亢進し予後不良となる可能性を示した。本論文は学術上および応用上の貢献が大きい。よって、審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。