

論文審査の結果の要旨

氏名 芳野 聖子

本論文では、酸素依存性の細胞増殖に重要な遺伝子の探索のため、肺癌細胞株 PC8 にゲノムワイド shRNA ライブラリーを導入し、通常酸素下と低酸素下の比較で変動した shRNA をマイクロアレイにより解析した。その結果、酸素依存性の細胞増殖に重要な遺伝子を 13 個同定している。さらに、同定遺伝子の 1 つである RNF126 の機能解析を行い、癌細胞の造腫瘍性に重要な役割を果たしていることを明らかにした。以下にその要旨を示す。

第 2 章は序論であり、酸素の生体内での役割（酸素生物学）、解糖系制御、これまでに報告されている shRNA ライブラリーを含むスクリーニング、E3 ubiquitin ligase による生物機能の制御について述べると共に、本研究の目的と意義について述べている。

第 4 章の結果の前半部では、shRNA ライブラリーによるスクリーニングにより低酸素適応遺伝子の探索を行った結果を述べている。ゲノムワイド shRNA ライブラリーを肺癌細胞株 PC8 に導入し、この癌細胞株を通常酸素下（酸素 21%）、低酸素下（酸素 1%）で培養し、変動した shRNA 配列をマイクロアレイにより解析した。アレイ解析により選出された候補遺伝子に対して、再度ノックダウン細胞を作製し、通常酸素下および低酸素下での増殖アッセイを行い、13 個の遺伝子が酸素依存性の細胞増殖に影響を与えることを明らかにした。これらの遺伝子の中には低酸素応答性アポトーシス阻害因子である BCL2L1 が含まれていた。一方、他の 12 個の遺伝子は、酸素依存性の増殖に関する報告が過去に無い遺伝子群であった。続いて、新規同定遺伝子群の低酸素下での発現を検討した結果、新規同定遺伝子群は通常酸素下と低酸素下の発現に有意な変化は見られない事を明らかにした。これより今回のスクリーニングから、低酸素下で遺伝子発現が誘導されないが、低酸素下での細胞増殖に重要な役割を果たす、という新しいタイプの遺伝子群が同定された事を明らかにした。

第 4 章の結果の後半部では、新規同定遺伝子の 1 つである RNF126 の機能解析について研究が展開されている。まず、RNF126 ノックダウン細胞を作製し増殖アッセイを行った結果、RNF126 ノックダウン細胞では通常酸素下での増殖が有意に減少することを明らかにした。細胞の通常酸素下の生存・増殖に必要なエネルギーは主にミトコンドリアの酸化的リン酸化で産生される。これより RNF126 ノックダウン細胞では通常酸素下のエネルギー代謝経路である解糖系と酸化的リン酸化の代謝バランスに問題が起きている可能性を指摘し、続いて代謝変化と RNF126 について着目して解析を進めている。その結果、RNF126

は通常酸素下で乳酸産生を制御していることを明らかにした。この原因を解明するため、細胞の解糖系と酸化的リン酸化の代謝バランスを制御する分子である、PDK1 と LDHA の発現解析を行っている。その結果、RNF126 ノックダウン細胞では、ピルビン酸からアセチル CoA に変換する酵素 PDH の阻害因子である PDK1 のタンパクレベルが上昇していることを明らかにした。更なる解析から RNF126 は PDK1 の E3 ユビキチンリガーゼであり、PDK1 のタンパク分解を制御していることを明らかにした。続いて RNF126 が造腫瘍性に関わるかどうか明らかにするため、MDA-MB-231 、A431 細胞で RNF126 ノックダウン細胞を作製し、ヌードマウス皮下での造腫瘍能を解析している。その結果、RNF126 ノックダウン細胞では顕著に造腫瘍能が低下しており、RNF126 は造腫瘍能に重要である事を明らかにした。

本論文は、ゲノムワイド shRNA スクリーニングを用いて酸素依存性の細胞増殖に重要な遺伝子の探索を行い、13 個の遺伝子を同定した。この中で、RNF126 は通常酸素下において PDK1 のタンパク分解を制御することで、解糖系と酸化的リン酸化のエネルギー代謝のバランスを調節し、癌細胞の造腫瘍性に重要な役割を果たしていることを明らかにした。

なお、本論文の前半の shRNA ライブラリーによるスクリーニング部分は、すでに国際学術誌に論文が採択済みである。主論文は、原 敏朗、Jane S. Weng.、高橋悠佳、清木元治、坂本毅治との共著となっているが、論文提出者が主体となって分析およ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。

以上 1856 字