京都大学	博士（医学）	氏　名	正　木　　聡
論文題目	Deficiency of Thioredoxin binding protein-2 (TBP-2) enhances TGF-β signaling and promotes Epithelial to Mesenchymal Transition （Thioredoxin binding protein-2 の欠損は TGF-β シグナルを増強し、上皮間葉移行を促進する）		

（論文内容の要旨）

Thioredoxin binding protein-2（TBP-2）は、癌の悪性度に相関して発現が低下すると報告されている。また、TBP-2 遺伝子変異マウスでは肝細胞癌の自然発症率が上昇することや、薬剤による発がんモデルでは TBP-2 欠損マウスは癌の浸潤・転移がより早く惹起されることが報告されており、TBP-2 は癌と密接な関係を示す分子である。しかしながら、TBP-2 欠損によって癌が悪性化するメカニズムは充分に解明されていない。

TGF-β は癌の初期段階においては細胞増殖抑制に働き、癌の進行とともに、中期から後期においては癌の浸潤・転移を促進する働きをすることが知られている。癌の後期では TBP-2 の発現が低下し、TGF-β が癌の悪性化に関与していることから、本研究では、TBP-2 と TGF-β が誘導する癌の悪性化の関連に焦点を当てて解析を行った。

TBP-2 の欠損が TGF-β シグナルの伝達にどのような影響を与えるか検討するために、TBP-2 遺伝子欠損マウスより樹立した mouse embryonic fibroblasts（MEFs）を用いてプロモーター解析を行った。その結果、TBP-2$^{-/-}$ MEFs において、TGF-β による転写活性能が亢進していた。ヒト肺癌細胞株 A549、ヒト乳癌細胞株 MDA-MB-231 を用いて、ノックダウン法により TBP-2 の発現を抑制しても TGF-β による転写活性能が亢進していた。さらに、TBP-2$^{-/-}$ MEFs、及び TBP-2 をノックダウンした細胞株において、TGF-β の標的遺伝子である PAI-1、Smad7 mRNA の発現が亢進していた。次に、TGF-β シグナルの伝達分子である Smad2 のリン酸化状態を観察した。Western blot の結果、TBP-2$^{-/-}$ MEFs においては、TGF-β による Smad2 のリン酸化状態が持続することが判った。同様にノックダウン法によって TBP-2 の発現を抑制した実験系においてもコントロールと比較して Smad2 のリン酸化レベルが高く維持されており、TBP-2 の欠損・発現低下によって、TGF-β シグナルが増強されることが判明した。

癌細胞は、浸潤・転移の過程で上皮間葉移行（Epithelial-mesenchymal transition：EMT）を引き起こす。EMT は TGF-β によっても誘導・促進されることが知られており、TBP-2 の欠損に伴う TGF-β シグナルの亢進が、EMT の促進に影響を与えるか検討するために、EMT の誘導において重要な役割を果たす転写因子 Snail、Slug の mRNA の発現量を解析した。その結果、ノックダウン法によって TBP-2 の発現を低下させた A549 細胞では、TGF-β 刺激による Snail、Slug の発現が増加し、EMT の代表的な指標である E-Cadherin の発現量が低下していた。A549 細胞は TGF-β 刺激によって EMT が誘導され、紡錘状の形態に変化することが知られているが、TBP-2 の欠損によって、その形態変化が早期に惹起されることも観察され、TBP-2 の欠損は TGF-β 誘導性の EMT を促進することが示された。

以上より、TBP-2 の欠損は、TGF-β シグナルを増強し、EMT の促進に関与することが明らかになった。これらの結果は、TBP-2 による癌抑制、TGF-β 誘導性の EMT の機構に対して新たな知見を示すものである。

（論文審査の結果の要旨）

Thioredoxin binding protein-2（TBP-2）の発現は癌の悪性度に相関して低下し、その欠損は癌の悪性化を促進させることが報告されているが、その詳細なメカニズムは十分に解明されていない。他方、TGF-β は癌の後期において、浸潤・転移など癌の悪性化を促進する作用を有する。癌の進展に伴う TBP-2 の発現低下が、TGF-β の癌悪性化作用に関連する可能性が考えられる。本研究では、癌悪性化機構の解明を目的として、TBP-2 の発現低下が TGF-β シグナルに与える作用に焦点を当てた解析を行った。

TBP-2 遺伝子欠損マウスより樹立した mouse embryonic fibroblasts（MEFs）、及びノックダウン法により TBP-2 の発現を低下させた細胞では、TGF-β による転写活性化が亢進しており、TGF-β の標的遺伝子である PAI-1、Smad7 の発現誘導が増加していた。また、シグナル伝達分子である Smad2 の TGF-β によるリン酸化のレベルが高く維持されていた。これらの結果から、TBP-2 の欠損によって TGF-β シグナルが増強されることが示された。さらに、TBP-2 の発現低下によって、上皮間葉移行（Epithelial-mesenchymal transition：EMT）の代表的な誘導因子である Snail、Slug の TGF-β による発現誘導が増加していた。また、ヒト肺癌細胞株 A549 において、TBP-2 の発現低下は TGF-β 刺激に起因する紡錘状への形態変化を早期に惹起した。これらの結果から、TGF-β 誘導性の EMT は TBP-2 の発現低下によって促進されることが明らかになった。

以上の研究は TGF-β が誘導する癌悪性化機構の解明に貢献し、癌疾患の治療・診断法の開発に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成２４年　６月２９日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日：　　年　　月　　日　以降