

氏名	にいえん たいん びん NGUYEN THANH BINH
学位(専攻分野)	博士(学術)
学位記番号	博甲第734号
学位授与の日付	平成27年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	工芸科学研究科 生命物質科学専攻
学位論文題目	Studies on <i>Drosophila</i> genes related to cancer and their roles in cell metabolism (ショウジョウバエの癌関連遺伝子とその細胞代謝における役割についての研究)
審査委員	(主査)教授 山口政光 教授 伊藤雅信 教授 亀井加恵子

論文内容の要旨

申請論文は「序論」第1章「キイロショウジョウバエの寿命決定における SCOX の役割」、第2章「Fused in Sarcoma のショウジョウバエホモログ Cabeza と EGFR シグナル経路の遺伝学的関連」そして「結論と展望」から構成されている。

序論では、本論文の背景と目的が述べられている。最初にヒト疾患研究のモデル生物としてのショウジョウバエについて概説している。次にミトコンドリア病と総称されるミトコンドリアの機能不全に起因する様々なヒト疾患について解説している。さらにミトコンドリアにおける電子伝達系の最終酵素であるシトクローム c オキシダーゼ (complex IV) とその複合体形成に関与する因子の一つであるヒト SCO2 とそのショウジョウバエホモログ SCOX について紹介している。SCO2 と SCOX はアミノ酸配列の同一性が 48.6%、類似性が 78.4% である。SCO2 は癌抑制遺伝子産物 p53 により正の転写制御を受けており、p53 機能が低下するがん細胞では、SCO2 遺伝子発現が低下し、その結果ミトコンドリアでの電子伝達系から解糖系に主たる ATP 産生システムが移行する癌のワールブルグ効果に関連している。次に筋萎縮性側索硬化症 (ALS) とミトコンドリア機能に関与する ALS 原因遺伝子のひとつである SOD1 について解説している。これらの学術的背景のもとに、申請者は、ショウジョウバエをモデルとして以下の二つの遺伝子に着目して研究を行った。一つは SCOX 遺伝子である。もう一つは FUS (*Fused in Sarcoma*) 遺伝子であり、これは ALS の原因遺伝子であることが知られている。

第1章ではショウジョウバエ SCOX 遺伝子に焦点をあてている。申請者は SCOX ノックダウンショウジョウバエ系統や全長 SCOX 遺伝子導入系統を樹立し、また SCOX に特異的な抗体を作製して研究ツールとして用いている。ショウジョウバエ全細胞での SCOX ノックダウンは幼虫期あるいは蛹期に致死となる。一方 SCOX 遺伝子導入系統では成虫寿命の延長が見られ、これらはそれぞれ個体内の ATP レベルの減少と増加に対応していることを明らかにした。また活性酸素を発生させることが知られるパラコートを摂食させるとこれらの違いはより顕著に見られた。これらのことから申請者は、SCOX はショウジョウバエ生体内での ATP の消費と産生に重要な役割を持つと推測している。

第2章ではヒト FUS のショウジョウバエホモログである Cabeza (Caz) の生体内機能について *Caz* ノックダウンショウジョウバエ系統を用いて研究を進めている。複眼原基特異的な *Caz* ノックダウンはアポトーシスを誘導し、レンズを分泌するコーン細胞の分化を阻害した。そしてその結果として成虫複眼の形態異常 (rough eye 表現型) をもたらした。遺伝的交配実験により申請者は、EGFR シグナル伝達経路関連遺伝子の突然変異がこの *Caz* ノックダウンが誘導する rough eye 表現型を抑圧することを見出した。特に *rhomboid-1* 遺伝子の突然変異は *Caz* ノックダウンが誘導するコーン細胞の融合や個眼の融合を抑圧した。これらの結果から、申請者は *Caz* が EGFR シグナル経路を抑制的に制御していることを示唆している。

結論と展望では、第1章と第2章で得られた結果を要約し、ミトコンドリア病への SCOX の関与の可能性と *Caz* に関して得られた知見から EGFR 経路が ALS 治療の新規標的になる可能性について考察している。

論文審査の結果の要旨

真核細胞の細胞内小器官であるミトコンドリアは、酸化的リン酸化による ATP の産生と細胞内環境の維持に重要な役割を果たしている。ミトコンドリアの欠陥は老化と癌や神経変性疾患などに密接に関わっている。ミトコンドリアにおける電子伝達系の最終酵素であるシトクローム c オキシダーゼ (complex IV) とその複合体形成に関与する因子の一つとしてヒト SCOX が知られており、そのショウジョウバエホモログは SCOX と呼ばれている。SCOX は癌抑制遺伝子産物 p53 により正の転写制御を受けており、p53 機能が低下するがん細胞では、SCOX 遺伝子発現が低下し、その結果ミトコンドリアでの電子伝達系から解糖系に主たる ATP 産生システムが移行する癌のワールブルグ効果に関連している。また筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の原因遺伝子の一つとしてミトコンドリア機能に関与する SOD1 が良く知られている。

申請者はまず *SCOX* ノックダウンショウジョウバエ系統や全長 *SCOX* 遺伝子導入系統を樹立し、また *SCOX* に特異的な抗体など有用な研究ツールを開発した。ショウジョウバエ全細胞での *SCOX* ノックダウンは幼虫期あるいは蛹期に致死となる。一方 *SCOX* 遺伝子導入系統では成虫寿命の延長が見られ、これらはそれぞれ個体内の ATP レベルの減少と増加に対応していることを明らかにした。また活性酸素を発生させることが知られるパラコートを摂食させるとこれらの違いはより顕著に見られた。これらのことから申請者は、SCOX はショウジョウバエ生体内での ATP の消費と産生に重要な役割を持つと推測している。

次に申請者は、ALS 原因遺伝子の一つであるヒト FUS のショウジョウバエホモログである Cabeza (Caz) の生体内機能について *Caz* ノックダウンショウジョウバエ系統を用いて研究を進めた。複眼原基特異的な *Caz* ノックダウンはアポトーシスを誘導し、レンズを分泌するコーン細胞の分化を阻害した。そしてその結果として成虫複眼の形態異常 (rough eye 表現型) をもたらした。遺伝的交配実験により申請者は、EGFR シグナル伝達経路関連遺伝子の突然変異がこの *Caz* ノックダウンが誘導する rough eye 表現型を抑圧することを見出した。特に *rhomboid-1* 遺伝子の突然変異は *Caz* ノックダウンが誘導するコーン細胞の融合や個眼の融合を抑圧した。これらの結果から、申請者は *Caz* が EGFR シグナル経路を抑制的に制御していることを明らかにした。これらの知見は、癌や ALS 治療法開発の基盤となり、その意義は高く評価できる。学位論文は英文で丁寧に作成されており、論旨も明解であった。本論文の内容は、申請者が筆頭著者である 1 編を含む、査読制のある国際的学会誌にすでに発表済みの下記の 2 編の論文を基礎としている。

- 1) **Nguyen, T. B.**, Ida, H., Shimamura, M., Kitazawa, D., Akao, S., Yoshida, H., Inoue, Y. H. and Yamaguchi, M.: Role of SCOX in determination of *Drosophila melanogaster* lifespan. American J. Cancer Res., 4 (4), 325-336, 2014.
- 2) Shimamura, M., Kyotani, A., Azuma, Y., Yoshida, H., **Nguyen, T. B.**, Mizuta, I., Yoshida, T., Mizuno, T., Nakagawa, M., Tokuda, T. and Yamaguchi, M.: Genetic link between *Cabeza*, a *Drosophila* homologue of *Fused in Sarcoma (FUS)*, and the EGFR signaling pathway. Exp. Cell. Res., 326, 36-45, 2014.