




学位論文審査の結果の要旨

平成28年 2月 2日

審査委員	主査	上田 夏生 		
	副主査	正木 夏生 		
	副主査	五十嵐 淳介 		
願出者	専攻	分子情報制御医学	部門	分子細胞医学
	学籍番号	12D743	氏名	野口 知里
論文題目	D-Allose Inhibits Cancer Cell Growth by Reducing GLUT1 Expression			
学位論文の審査結果	<input checked="" type="radio"/> 合格 ・ <input type="radio"/> 不合格 (該当するものを○で囲むこと。)			

〔要旨〕

これまで申請者らは、希少糖のひとつである D-アロース (D-allose, D-グルコースの C3 エピマー; $C_6H_{12}O_6$, MW 180) が、がん抑制遺伝子である Thioredoxin interacting protein (以下、TXNIP とする) を発現誘導することで細胞周期を停止させ、がん細胞の増殖を抑制することを解明してきた。様々ながん細胞において TXNIP の発現減少が見られることから、TXNIP の発現はがん細胞増殖に大きな影響を与えるものであると考えられる。

最近、Ning Wu らが、TXNIP 発現をダウンレギュレーションした細胞においてグルコーストランスポーター (以下、GLUT とする) のひとつ GLUT1 の発現が増加することを報告した。多くのがん細胞においては GLUT の発現が増加し、エネルギー源としての糖の取り込みを増加することが、がん細胞の異常増殖の一端を担っている。従って申請者は D-アロースにより TXNIP の発現誘導が起こり増加すれば、がん細胞において GLUT1 の発現が減少するのではないかとの仮説を立て研究を行った。

3種類のがん細胞 (HuH-7, MDA-MB-231, SH-SY5Y) を用いたウェスタンブロットにおいて、D-アロースはこれらの細胞での TXNIP の発現を有意に増加させ、GLUT1 の発現を濃度依存的に減少させた。リアルタイム PCR においても、同様に、D-アロースは TXNIP の発現を有意に増加させ、GLUT1 の発現を有意に減少させた。また、GLUT1 の発現減少は、TXNIP 遺伝子導入により強制発現させた細胞においても確認された。

さらにより詳しい調節機構を調べるために、HuH-7 細胞を用いて実験を行った。D-アロースは細胞増殖を抑制するとともに、D-グルコース取り込み能の測定では、D-アロースの添加により D-グルコースの細胞内取り込み量が減少した。D-アロースによる GLUT1 の転写調節機構については、TXNIP による調節部位の可能性のある Hypoxia response element (以下、HRE) 応答エレメント (5'-CGTGCTG-3') に注目した。Luciferase gene reporter assay による遺伝子発現解析では、この HRE

の遺伝子活性はD-アロースを添加することで低下した。また、TXNIPを過剰発現させた細胞においても、活性の低下が確認された。同様にHRE配列を含むGLUT1プロモーター活性もD-アロースの添加で、活性が低下することが示された。さらに、この活性低下は、HREを変異不活性化したGLUT1プロモーターでは、D-アロースの添加による活性抑制の程度が小さくなった。

これらの結果から、D-アロースはTXNIPの発現上昇を介してHRE部位を含むGLUT1遺伝子のプロモーター活性を抑制することで、GLUT1の発現低下およびその結果としてのD-グルコース取り込み抑制とがん細胞増殖抑制を起こすことが判明した。このメカニズムは、D-アロースによるがん細胞増殖抑制効果において重要な役割を担っていると考えられる。

本研究に関する学位論文審査委員会は平成28年2月2日に行われた。

審査においては、

1. D-アロースがGLUT1のプロモーター領域にあるHREを抑制するメカニズムはどうなっているのか？
2. GLUT1のプロモーター領域にはHRE以外にもいくつか結合サイトがあるが、それらの確認は行ったか？
3. D-アロースは正常細胞へ影響するのか？
4. D-アロースが作用するのは、D-アロースが細胞外にあるレセプターと結合するなどしてシグナルが伝達されるのか、それとも細胞内に取り込まれてから作用するのか？
5. GLUTには他にも種類があるが、他のGLUTへのD-アロースの影響はあるのか？

などについて多数の質問が行われた。申請者はいずれにも適確に解答し、十分な見識と能力を有することが認められた。

本研究は希少糖D-アロースのもつ抗がん作用に関して細胞周期進行抑制のみならずGLUT1発現抑制機構も有していることを示したもので、結果に対する十分な考察もなされており、今後の発展が期待できる。本研究で得られた成果は現在、盛んに研究が行われている希少糖D-アロースのもつ抗がん作用のメカニズムを明確化することにおいて意義があり、学術的価値が高い。以上の審査を踏まえ、委員会の合議により、本論文は博士（医学）の学位論文に十分値するものと判定した。

掲 載 誌 名	The Tohoku Journal of Experimental Medicine 第238巻, 第2号		
(公表予定) 掲 載 年 月	平成28年2月	出版社(等)名	Tohoku University Medical Press

(備考) 要旨は、1, 500字以内にまとめてください。