

(様式 6-1)

学籍番号 : 1931D01

氏名 : 増本 唯

論文題名 : *Trefoil factor (TFF) 2* 遺伝子の発現と機能解析に関する研究

区分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

国立がん研究センターによるがん統計において、2019年の臓器別がん罹患患者数で1位となっている大腸がんは、男女ともに高い罹患率を示し、今後も増加していくことが推察されている。大腸がんは複数のがん遺伝子やがん抑制遺伝子の異常が多段階的に蓄積することで引き起こされ、大腸がんの起因遺伝子を探ることは重要である。

当研究室では、ヒト大腸がんモデルである *Apc*^{Min/+}マウスを用いて、マウスの腸管腫瘍内に発現している遺伝子を網羅的に解析することで、*Trefoil factor (TFF) 2* が高発現していることを見出していた。*Trefoil factor (TFF) 2* は正常では胃の組織で多く発現しており、分子量 12kDa の小さなペプチドで消化管などの粘液産生細胞より分泌される分泌タンパク質として知られている。*TFF2* はヒト、マウス、ラットやウシにおいて構造上の機能ドメインが保存されており、近年、マウスを用いた実験により、膵臓において胚の発生時期に *TFF2* タンパク質の存在が器官形成に重要な役割を果たしていることが明らかとなっている。また、胃がんにおいて *TFF2* は発現低下が報告されている一方、膵臓がんや結腸がんなど多くの腫瘍においては高発現していることが報告されており、その役割についてがん促進的なのか抑制的なのか相反する意見があり詳細は未だ不明である。

本研究では、*TFF2* の機能を明らかにするために4つの章に分けて実験を行った。第1章では、腸管腫瘍において高発現している *TFF2* は *in vitro* における結腸細胞では発現が確認されなかったことから、培養環境の見直しを行った。がん微小環境である温度変化や酸性環境を模倣した結果、酸性により *TFF2* の発現が有意に誘導されることが明らかとなり、その発現は酸性 pH 依存的に上昇していることが確認された。一般的に正常組織の胃において発現が高い *TFF2* の発現は、正常組織のみならず腫瘍細胞においても酸性環境下で発現が誘導されることを明らかにした。第2章では、酸

(様式 6-1)

性条件下におけるその他の遺伝子群の発現動向を網羅的に解析した。加えて、培養上清中に含まれる TFF2 タンパク質が他の遺伝子発現に与える影響についても解析を行った。酸性環境において、Plasma membrane、Glycoprotein、Cell surface に関わる遺伝子群の発現上昇が確認された。このことから、細胞は周囲の環境に応じて細胞膜成分の発現を上昇させ、修復などを促していることが示唆された。培養上清中に含まれる TFF2 タンパク質は、周辺細胞において細胞外基質であるフィブロネクチンⅢ型ドメイン遺伝子やアクチン結合遺伝子の発現を有意に上昇させた。このことから、分泌された TFF2 タンパク質は、Fibronectin などの細胞外基質成分を増加させ、器官形成時の足場を整えるなどの役割を果たしているものと考えられる。培養上清中に含まれる TFF2 タンパク質がフィブロネクチンの発現上昇に関与していたことから第 3 章では、TFF2 を siRNA で抑制したときのフィブロネクチンの発現変化を確認した。TFF2 の発現抑制前後を比べた結果、フィブロネクチンⅢ型ドメイン遺伝子の FNDC3B と FNDC5 は有意に抑制されることが明らかとなった。FNDC3B タンパク質は腸管腫瘍において PI3K/mTOR シグナル伝達を介し増殖や浸潤へ関与するとの報告から、TFF2 を標的としその発現を抑制することは浸潤抑制効果へつながることが期待された。第 4 章は、培養上清に含まれる TFF2 タンパク質が細胞の代謝産物に与える影響を明らかにするためメタボローム解析を行った。パスウェイ解析では、タウリン・ヒポタウリン経路やグルタチオン経路の代謝物が有意に上昇していることが明らかとなった。タウリンは、酸化ストレス作用によるミトコンドリアの機能改善やアポトーシス抑制などが報告されており、グルタチオンは細胞の恒常性を保つことが知られている。以上の結果から、酸性環境下で発現が上昇した TFF2 は、周辺細胞に細胞外基質であるフィブロネクチンの発現上昇を促し、さらに酸性におけるストレス耐性や恒常性を維持するための代謝産物の産生を促していることが示唆された。

膵臓の器官形成や胃の粘膜保護において重要な役割をしている TFF2 は、腫瘍内において促進的／抑制的という相反する報告が多数存在し、長年に渡り腫瘍における役割は不明瞭であった。本研究により TFF2 は、腫瘍内においてもワールブルク効果による酸性がん微小環境により発現誘導され、細胞の生存に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。腫瘍組織における TFF2 の高発現は、腫瘍内部環境の増悪化を測る指標となり、また、がん治療の標的遺伝子として腫瘍細胞の生存抑制に有効活用できる可能性が示唆された。