

博士學位論文

内容の要旨及び審査結果の要旨

第47号

2020年3月

京都産業大学

は し が き

本号は、学位規則（昭和28年4月1日文部省令第9号）第8条の規定による公表を目的とし、令和2年3月21日に本学において博士の学位を授与した者の論文内容の要旨及び論文審査結果の要旨を収録したものである。

学位番号に付した甲は学位規則第4条第1項によるもの（いわゆる課程博士）であり、乙は同条第2項によるもの（いわゆる論文博士）である。

目 次

課程博士

1. 木村 ^{キムラ} 輔 ^{タスク} [博士 (先端情報学)] …………… 1
2. 天野 ^{アマノ} 瑠美 ^{ルミ} [博士 (生命科学)] …………… 5
3. CHATCHADAWALAI CHOKCHAITAWEEESUK [博士 (生命科学)] …… 9

氏名（本籍）	CHATCHADAWALAI CHOKCHAITAWESUK（タイ王国）
学位の種類	博士（生命科学）
学位記番号	甲生 第2号
学位授与年月日	令和2年3月21日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
論文題目	Enhanced hexosamine signaling in aggressive breast cancer: implications of metabolic and signaling networks involving hyaluronan production and O-GlcNAcylation
論文審査委員	主 査 板野 直樹 教授
	副 査 中田 博 教授
	” 瀬尾 美鈴 教授

論文内容の要旨

The hexosamine biosynthetic pathway (HBP) metabolically regulates dynamic cellular events by linking nutrient availability to numerous signaling networks. Significant alterations in the HBP are often associated with cancer pathogenesis. In this study, the candidate investigated the molecular events underlying cancer pathogenesis associated with enhanced HBP flux. Multidimensional analysis of microarray datasets demonstrated up-regulation of genes encoding HBP enzymes in clinical breast cancers and revealed that co-expression of hyaluronan synthase 2 (HAS2) and glutamine:fructose-6-phosphate amidotransferase (GFAT), a rate limiting enzyme of the HBP, was strongly correlated with a poor prognosis in advanced cancer patients. Consistently with the clinical data, comparative analyses of distinct breast cancer mouse models demonstrated enhancement of the HBP gene expression in primary carcinoma cells, with elevation of Has2 expression and hyaluronan production in aggressive breast cancer cells. The silencing of GFAT reduced CD44^{high}/CD24^{low} cancer stem cell (CSC)-like subpopulations, aldehyde dehydrogenase-positive cell populations, and mammosphere size, which were further diminished by gene targeting of Has2. Has2 gene disruption reduced the *in vivo* growth of aggressive cancer cells and attenuated pro-tumorigenic Akt/GSK3β/β-catenin signaling and cisplatin resistance. Overall protein O-GlcNAcylation was also elevated in association with HBP enhancement in aggressive cancer cells, and the modification exhibited

overlapping but distinct roles from the hyaluronan signal in the regulation of CSC-like features. The current data therefore demonstrate that enhanced hexosamine metabolism drives pro-tumorigenic signaling pathways involving hyaluronan and *O*-GlcNAcylation in aggressive breast cancer.

論文審査結果の要旨

がん幹細胞は、がん細胞の供給源としてがんの発生や進展に重要であるほか、従来の化学療法や放射線治療に抵抗性を示し、転移や再発を引き起こすことから、根治を阻む最大の要因と考えられている。しかし、がん幹細胞性の維持や抗がん剤抵抗性の獲得に働く機構は、いまだ十分に解明されておらず、そのため転移・再発がんの治療法も極端に限定されている。転移・再発した治療抵抗性のがんを従来の化学療法により治療可能とするためには、がん幹細胞性の維持や抗がん剤抵抗性の獲得に働く機構の解明が重要な課題となっている。

本論文では、ヘキソサミン合成経路（以下、HBP）とその下流シグナルが、乳がんの進展やがん幹細胞性の制御、さらには抗がん剤抵抗性の獲得に果たす役割を解析し、以下の結果を得た。まず、乳がん臨床検体の遺伝子発現データベースを解析し、HBP 酵素遺伝子群の発現が、乳がんに関連して上昇していることを見出した。HBP は、細胞内糖代謝の主要プログラムであり、最終産物のウリジン二リン酸-N-アセチルグルコサミン(UDP-GlcNAc)の供給により、タンパク質の O-GlcNAc 修飾やヒアルロン酸糖鎖シグナルを上流で調節している。そこで、乳がん臨床検体を用いて、ヒアルロン酸合成酵素(HAS)の遺伝子発現を解析し、ヒアルロン酸合成酵素 2(HAS2) 遺伝子が、乳がんの進展や予後と密接に関連して発現していることを明らかにした。この傾向は、HAS2 と HBP の律速酵素であるグルタミン・フルクトース 6-リン酸アミドトランスフェラーゼ(GFAT)との共発現において、より顕著であった。進行性乳がんモデルマウスの乳がんより樹立したがん細胞を用いて、HBP 酵素遺伝子群と HAS2 遺伝子の発現を解析し、乳がん臨床検体で得られた結果と同様に、がんの悪性化と関連して発現亢進していることを明らかにした。

次に、乳がんの進展に働く HBP 下流シグナルを特定するため、進行性乳がんモデルマウスの乳がんより樹立したがん細胞を用いて、ヒアルロン酸糖鎖シグナルを遺伝子改変技術により抑制した。その結果、がん幹細胞性が減弱し、免疫不全マウスにおける造腫瘍能が低下することを明らかにした。さらに、ヒアルロン酸糖鎖シグナルの抑制により、抗がん剤シスプラチンによるがん細胞の細胞死が上昇し、抗がん剤抵抗性が減弱することを示した。

HBP 下流シグナルとして働くタンパク質の O-GlcNAc 修飾について同様の解析を行ったところ、O-GlcNAc 修飾が進行性乳がん細胞で上昇していることを明らかにした。さらに、O-GlcNAc 転移酵素の阻害剤による O-GlcNAc 修飾の阻害が、がん幹細胞性を抑制し、この効果が、ヒアルロン酸糖鎖シグナルの抑制によりさらに増強されることを見出した。一方、阻害剤による O-GlcNAc 修飾の抑制が、ヒアルロン酸糖鎖シグナルの抑制により低下した抗がん剤抵抗性を再度上昇させることを明らかにした。以上の結果は、HBP 代謝と連動したヒアルロン酸糖鎖シグナルと O-GlcNAc 修飾が、がん幹細胞性の制御において相互補完的に機能しており、両者のバランスが、がん細胞の抗がん剤耐性獲得に重要であることを示唆している。

以上、得られた結果は何れも新規性があり、がん幹細胞の制御や抗がん剤耐性獲得の機構を理解するうえで大変意義がある。

主査、副査の博士論文調査委員による論文審査の結果、研究課題に新規性が認められること、作業仮説や実験方法に妥当性があること、そして、結果の解釈や考察が適切に導かれていることから、本論文は博士学位論文としてふさわしいものであると認められた。また、令和2年2月10日に開催された公聴会では、発表内容は論理的かつ明瞭にまとめられており、質疑応答に対しても的確に回答されていた。よって、申請者は当該分野に関する学力において、博士の学位に相応しい資格を有していることが確認された。

以上より、本論文は、博士（生命科学）の学位を授与されるに値するものと認められる。