



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Biological roles of SOX2 and mechanisms of regulation of its expression in human breast cancer cells [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	梁, 珊珊
Description	配架番号 : 2112
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第11240号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/56253
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Liang_Shanshan_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 梁 珊珊

	主査	教 授	山下 啓子
審査担当者	副査	教 授	田中 伸哉
	副査	教 授	廣瀬 哲郎
	副査	准教授	濱田 淳一

学 位 論 文 題 名

Biological roles of SOX2 and mechanisms of regulation of its expression
in human breast cancer cells

（ヒト乳がん細胞における SOX2 遺伝子の役割とその発現調節機構）

学位申請者は、ヒト乳がんにおける SOX2 遺伝子の発現意義とその発現制御機構について検討し、以下の成果を発表した。まず、SOX2 プロモーター活性に必須となるプロモーター領域内の部位を明らかにするためにプロモーター領域を 5' 側から欠損させた一連のレポーターベクターを作製し、乳がん細胞株のひとつ MCF-7 細胞に導入した。その結果、SOX2 のプロモーター活性が惹起されるには、プロモーター領域内の-227/-69 (+1 は転写開始点の塩基) の部位が必須であることがわかった。つぎに、この部位に結合するタンパク分子を質量分析等を駆使して探索したところ、3つの候補タンパクが同定された。MCF-7 細胞を用いてそれぞれのタンパク発現を人為的に変化させたところ、そのうちのひとつ p54^{nrb} は SOX2 の発現を抑制することが明らかとなった。クロマチン免疫沈降法などによるさらなる解析から、p54^{nrb} が-227/-69 部位に存在する POU 結合エレメントに結合し、SOX2 の転写を抑制すること、その抑制には p54^{nrb} の Coiled-coil ドメインおよび C-末端領域が必要であることを示した。さらに、p54^{nrb} は RNA ポリメラーゼ II (PolII) と複合体を形成すること、ならびに p54^{nrb} の発現抑制が PolII の-227/-69 部位への結合を高めることも明らかにした。一方、幹細胞性の指標となるスフェア形成能を調べたところ、SOX2 プロモーター活性の高い MCF-7 細胞は低いものに比べスフェア形成能が高く、また、p54^{nrb} の発現を抑制するとスフェア形成能が増強することがわかった。以上の結果から、申請者はヒト乳がん細胞においては、p54^{nrb} が SOX2 遺伝子の転写調節の一役を担い、幹細胞性の発現制御に重要な役割を果たしていると結論した。

審査にあたり、まず廣瀬哲郎教授から、「SOX2 プロモーター領域に結合するタンパクとし

て3つが同定されたわけだが、これら以外の基本的な転写因子等が見つからなかった理由は何か。」「がん幹細胞ではSOX2が発現しているので、p54^{nrb}の機能あるいは発現が低下していることになるが、実際にはどうか。」および「今回提唱したp54^{nrb}によるSOX2の発現抑制機序の他に考えられる機序はないか。」との質問を受けた。これらの質問に対して申請者は、自らが行った実験の詳細な条件、予備的実験の成果および他家の報告を交えて、いずれの質問に対しても明確に回答した。田中伸哉教授は、乳がんのSOX2遺伝子に着目した理由について尋ねた。申請者は今回の研究を着手するに至る経緯および自身の興味について説明した。また、「ヒトがんにおけるSOX2陽性率およびがん組織内に存在するSOX2陽性細胞の割合」についての質問があった。申請者自身は回答できるデータをもっておらず、また現在のところ該当する研究報告もみあたらないが、その点を明らかにすることはSOX2発現の腫瘍学的意義を考える上で重要であるとの回答を行った。さらに、「がん細胞の幹細胞性を評価する方法として主にスフェア形成アッセイを行っているが、他のアッセイも実施すべきではないか」との指摘を受けた。申請者は、他家が報告しているようなCD44やNANOGなどの遺伝子発現解析は行ったが、in vivoにおける腫瘍形成能の評価が最も重要であると考えており、今後実施する計画であると回答した。濱田淳一准教授からは、ヒト乳がん組織におけるSOX2およびp54^{nrb}陽性細胞の局在についての質問があった。申請者自身は臨床材料を用いた免疫組織化学的解析は行っておらず、また両者の発現を同時に解析した報告もなされていないので、今後の検討課題であるとの回答をした。最後に主査の山下啓子教授より「エストロゲン受容体(ER)の発現とSOX2プロモーター活性の関連性」、「SOX2プロモーター活性と細胞の悪性度との相関性」ならびに「本研究で得られた成果の臨床の場での活用」についての質問を受けた。前2者に対しては、ERの発現については検討していないこと、予備的な実験結果であるがSOX2プロモーター活性の高い乳がん細胞はスフェア形成能に加え細胞ストレスに対する生存能が高い傾向がある旨の回答をした。本研究成果の臨床の場への利用については、がん幹細胞の診断やそれを標的とする治療の分子標的となりうるとの意見を述べた。

本論文は、ヒト乳がんにおけるSOX2の発現の腫瘍生物学的意義とその発現制御機構の一端を明らかにしたものであり、乳がんの診断・治療に新たな展開を導くものと期待される。審査員一同はこれらの成果を評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士(医学)の学位を受ける資格を有すると判定した。