

論文内容の要旨

申請者氏名 板鼻 陽子

Id proteins are inhibitors of basic helix-loop-helix transcription factors and generally stimulate cell proliferation and inhibit differentiation. It has been shown that ectopic expression of Id-1 in murine mammary epithelial cells resulted in loss of differentiation and gain of invasive and proliferative abilities in culture. I show here that Id-1 expression during murine mammary gland development followed a pattern expected from the cell cultured studies, and also that Id-1 was highly expressed in aggressive human breast cancer cells *in vitro* and in human breast cancer biopsies from infiltrating grade. These results suggest that Id-1 might be an important regulator of breast cancer progression. Moreover, I show that human metastatic breast cancer cells which have a high level of Id-1 expression became significantly less invasive *in vitro* and less metastatic *in vivo*, when Id-1 was down-regulated by stable transduction with antisense Id-1. This might be, at least in part, through the mechanism suppressing the expression of the matrix metalloproteinase MT1-MMP

In contrast to Id-1, I found that Id-2 was up-regulated as mammary epithelial cell lost proliferative capacity and initiated differentiation both *in vitro* and *in vivo*. One of the components of the extracellular matrix network, laminin, is responsible for the increase in Id-2 expression during differentiation. I also show that Id-2 expression was associated with reduced invasiveness in breast

cancer cells *in vitro* and in breast cancer biopsies. When reintroduced in aggressive breast cancer cells, Id-2 is able to reduce their proliferative and invasive phenotypes and decrease their level of matrix metalloproteinase 9 secretion as well as increase syndecan-1 expression. Therefore, Id-2 expression not only followed a pattern opposite to that of Id-1 during mammary gland development and breast cancer progression, but also appears to act as an important protein for the maintenance of a differentiated and non-invasive phenotype in normal and transformed breast cells.

Using the technique of cationic liposome-DNA complex-based intravenous antisense gene delivery, significant reduction of breast cancer metastasis was demonstrated *in vivo* by specifically targeting Id-1 expression, suggesting Id-1 as a promising target in breast cancer therapy. Because Id-2 showed an opposite role to Id-1 in breast cells, the combination of Id-1 antisense and Id-2 sense gene delivery could be a useful therapeutic approach for reaching a complete inhibition of breast cancer metastasis.

論文審査結果の要旨

申請者氏名 板鼻 陽子

転写制御因子を介した遺伝子発現ネットワークは細胞の増殖・分化の制御を司る。その中で、HLH (Helix-loop-helix) 型転写制御因子は、HLH ドメインを介した 2 量体を形成することにより、DNA 上の特定の配列に結合する特徴を有する。そのサブファミリーを構成する Id 蛋白質は HLH ドメインを有するが、DNA 結合ドメインを欠くため、他の HLH 型因子と結合することにより優勢不能分子の性質を示す。申請者は、個体、組織、細胞を材料とする研究により、2 種類の Id 蛋白質 (Id-1、Id-2) が哺乳動物の乳腺組織の発生ならびに乳がん発生の過程において果たす役割を明らかにした。さらに、それらの知見をもとに、乳がん治療への新しい可能性を示している。

まず、乳腺組織形成過程および SCp2 細胞を用いた *in vitro* 分化誘導系における Id-1 の発現プロファイルを解析し、それらの増殖過程において強く発現することを明らかにした。さらに、乳がん組織由来のがん細胞株ならびに乳がん組織においてもその悪性度に比例して Id-1 が強く発現していることを見出した。逆に、それらの細胞、組織における Id-1 の発現を抑制すると、がん細胞の悪性度、浸潤能力が低下する。一方、Id-2 は、Id-1 とは対照的に、上皮細胞が増殖を止め、分化に向かうのに伴い、その発現レベルが上昇することを明らかにした。さらに、細胞外マトリクス・ラミニンが、Id-2 の発現レベルを制御していることが分かった。また、Id-2 の発現のレベルとがん細胞の悪性度が反比例する。すなわち、Id-1 とは逆に、悪性細胞に Id-2 を導入することにより、浸潤活性の低下が見られることを明らかにした。

以上のように、乳腺組織の形成における細胞の増殖・分化と Id-1 と Id-2 の発現との関連を明らかにしたうえで、それらの特性を活かし、発がん抑制の可能性を試みている。すなわち、乳がん由来のがん細胞をヌードマウスに移植する際に、Id-1 の発現を抑制した細胞を用いると、個体内でのがんの転移が著しく抑制されることを実証した。また、これらの知見は、乳がんの悪性度、浸潤、転移を診断するうえで、Id-1 ならびに Id-2 が格好のマーカーとなり得る可能性を示唆している。

以上のように、本論文は乳腺形成における転写制御因子 Id-1 および Id-2 の役割を明らかにするとともに、がん化における両遺伝子の役割を解析することにより、発ガン抑制への新しい可能性を示したもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。