

博士學位論文

内容の要旨及び審査結果の要旨

第 54 号

2024 年 9 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 6 年 3 月 16 日 17 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. 川島 亮太郎	〔博士（経済学）〕	1
2. 川西 康之	〔博士（先端情報学）〕	4
3. 堤 智香	〔博士（生命科学）〕	7
4. 岩本 駿吾	〔博士（生命科学）〕	9

氏 名（本 籍）	川島 亮太郎（東京都）
学 位 の 種 類	博士（経済学）
学 位 記 番 号	甲経 第 10 号
学位授与年月日	令和 6 年 9 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	親子上場解消のための完全子会社化に関する実証分析 —取引の価値の効果と子会社少数株主への配分—
論文審査委員	主 査 坂 井 功 治 教授
	副 査 北 村 紘 教授
	〃 西 村 佳 子 教授

論 文 内 容 の 要 旨

本論文の目的は、親子上場解消のための完全子会社化について、主に以下 2 点の検証を行うことである。第一は、完全子会社化の価値の効果とその源泉に関する検証である。完全子会社化は親会社が支配関係にある子会社の株式を追加取得することで実施され、その価値と源泉は通常の M&A とは大きく異なる可能性がある。第二は、子会社の少数株主の立場から見た完全子会社化取引の公正性に関する検証である。親会社は子会社に対する支配権や私的情報を有していることから、完全子会社化においては、親会社が自己利益を追求することで子会社の少数株主の利益が損なわれている可能性がある。検証にあたっては、2007 年から 2020 年までの日本企業の完全子会社化のデータを用い、第 2 章では完全子会社化の概観、第 3 章では完全子会社化の株価反応とその要因、第 4 章では完全子会社化の買収プレミアムと子会社少数株主の利益について分析が行われている。

各章の具体的な内容は以下である。第 2 章では、完全子会社取引の概要や特徴を整理したうえで、親子上場をめぐる近年の証券取引所や政府、司法などの対応の変遷について概観している。また、適時開示のレビューや事例研究を通して完全子会社化の目的や背景について考察を行い、
(1) 完全子会社化の目的の一つは親子上場の下では困難だった戦略的施策を可能にすることで

あること、(2) 実際の完全子会社化においては少数株主保護のために広範な措置が実施されていたことなどを見いだしている。

第3章では、Slovin and Sushka (1998) らの仮説にもとづき、完全子会社化のアナウンスメント周りの株価反応とその要因に関する分析を行っている。株価反応の分析では、(1) 親会社と子会社の株価反応の加重平均値はプラスで有意であり、完全子会社化は価値を生み出す取引であること、(2) 親会社の株価反応は金銭対価の場合はプラスだが、株式対価の場合は新株発行に伴う逆選択コストを反映してマイナスであること、(3) 子会社の株価反応はプラスで通常の M&A の水準と同程度であり、完全子会社化で子会社の少数株主が不利に扱われているとの証左は得られないことなどを示している。また、株価反応の要因分析では、利益相反管理費用の削減とフリーライディング問題の解消が完全子会社化の価値の源泉であることを示している。

第4章では、完全子会社化の買収プレミアムの決定要因について分析したうえで、完全子会社化の価値の効果が親会社と子会社少数株主の間で公正に配分されているかどうかを分析している。また、子会社少数株主への価値の配分比率に影響を与える要因についても分析している。買収プレミアムの決定要因の分析では、(1) 子会社株式のアンダーバリュエーションが買収プレミアムの源泉になっており、親会社は私的情報を利用して子会社株式が過小評価されているタイミングで完全子会社化を行っていること、(2) 子会社の業績や財務状況が悪いほど、救済や立て直し費用を反映して買収プレミアムが低くなることなどを示している。公正性の分析では、子会社少数株主への価値の配分比率は持株比率とほぼ同じか上回っており、取引が公正であることを示している。また、価値の配分の要因分析では、親子会社間の人的関係や取引関係の存在は少数株主への価値の配分比率を引き下げており、親会社による強圧性の存在が完全子会社化の公正性を歪める可能性があることを示している。

論文審査結果の要旨

本論文は、親子上場解消を目的とした完全子会社化について、完全子会社化の価値の効果とその源泉、および完全子会社化取引の公正性について実証的な検証を行ったものである。

第2章では、完全子会社取引の概要・特徴を整理し、親子上場をめぐる近年の制度的変遷を概観するとともに、適時開示のレビューや事例研究を通して企業が完全子会社化を行う目的や背景について考察を行っている。特に、適時開示のレビューや事例研究においては、適時開示書類のキーワードや過去の完全子会社化の事例を詳細に調査しており、データを使った実証分析だけに依るのではなく、現実の完全子会社化の実態について丁寧に検証を行う本論文の姿勢が垣間見える。

第3章では、完全子会社化のアナウンスメント周りの株価反応とその要因に関する分析を行っている。完全子会社化の株価反応に関する日本の先行研究は限られており、結果も研究によって異なっているのが現状である。なかでも、TOB による完全子会社化の株価反応を分析した研究は少なく、加えて、完全子会社化の総利得である親子会社の株価反応の加重平均値の分析はこれまで行われていない。そのため、日本における完全子会社化の価値の効果については未解明の点が

多い。この点において、本章では、親会社と子会社の株価反応の加重平均値の分析に加え、TOBと株式対価取引での効果の違い、効果の源泉など、詳細かつ包括的な検証を行っており、(1) 親会社と子会社の株価反応の加重平均値はプラスで有意であり、完全子会社化は価値を生み出す取引であること、(2) 親会社の株価反応は金銭対価の場合はプラスだが、株式対価の場合は新株発行に伴う逆選択コストを反映してマイナスであること、(3) 完全子会社化の価値の源泉は、利益相反管理費用の削減とフリーライディング問題の解消であることなど、新たな発見事実を多数提示している。

第4章では、完全子会社化の買収プレミアムの決定要因を分析したうえで、子会社の少数株主の立場から見た完全子会社化の公正性について分析を行っている。買収プレミアムの決定要因の分析はMBOを対象とした先行研究が多く、完全子会社化を対象とした先行研究は少ない状況にあり、未解明の点が多い。また、完全子会社化の公正性の分析についても、直接的にはこれまで行われてこなかった。この点において、本章では、完全子会社化に焦点を当てたうえで買収プレミアムの決定要因を分析するとともに、Bates et al. (2006)の分析手法を用いて完全子会社化の公正性を直接的に検証しており、(1) 子会社株式のアンダーバリュエーションが買収プレミアムの源泉になっていること、(2) 子会社の業績や財務状況が悪いほど、買収プレミアムが低くなること、(3) 子会社少数株主への価値の配分比率は持株比率とほぼ同じか上回っており、完全子会社化取引が公正であること、(4) 親子会社間の人的関係や取引関係の存在は少数株主への価値の配分比率を引き下げることなど、新たな発見事実を複数示している。

予備調査における指摘事項についてはすべて適切な対処がなされており、論文の検証は総じて適切かつ説得的なものである。また、本論文は先行研究にない新たな発見事実を多数提示しており、学術的な貢献と重要性は十分に認められる。特に、本論文の第3章と第4章は査読付き学術誌に掲載済みであり、外部の査読にも十分に耐えうる水準に達している。以上により、本論文は博士学位論文の水準を十分に満たし、博士学位の授与に値するものと判断する。

氏 名（本 籍）	川 西 康 之（兵庫県）
学 位 の 種 類	博士（先端情報学）
学 位 記 番 号	甲先 第 6 号
学位授与年月日	令和 6 年 9 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	自動車等サイバーフィジカルシステムの特定の領域や観点に合わせたセキュリティ設計におけるリスクの分析手法に関する研究
論文審査委員	主 査 井 上 博 之 教授
	副 査 秋 山 豊 和 教授
	〃 林 原 尚 浩 教授

論 文 内 容 の 要 旨

本研究は、自動車システムを主なターゲットとした、サイバーフィジカルシステムのセキュリティ設計手法の効率化に係る研究である。近年の自動車システムは ICT (Information and Communication Technologies: 情報通信技術) の導入により、ICT システムと同様の手段でサイバー攻撃が実施でき、その攻撃の結果が事故につながるなど、単にセキュリティのみならずセーフティの観点でも対策が必要なサイバーフィジカルシステムとなっている。2015 年の Jeep チェロキーのハッキングによる制御乗っ取り実験の成功以来、自動車システムの脆弱性がもたらしうる深刻な影響が予測され、近年でも CAN インバーダーによる車両盗難が現実に行われるなど、自動車システムへのサイバー攻撃が問題となっている。そのような情勢を受け、自動車システムにおいても ICT システム同様のセキュリティ設計を行うことが急務となっている。

セキュリティ設計は、機能やセーフティと同様に、セキュリティに関してシステム仕様を作るプロセスである。まずシステム仕様書から機能やデータフローを整理したシステムモデルを元に、守るべき機能やデータを資産として抽出する。次に資産への攻撃のしやすさや攻撃により受けた損害の深さからリスクの大小を評価する。そしてリスクを回避・軽減するのか受け入れるのかなど取り扱いを決め、対策方針を決定する。最後に対策方針を実現するために必要なセキュリティ要件を洗い出し、設計仕様に盛り込む。これらの作業をシステム開発時に行う手順を定めたのが、JASO TP15002 (2015 年) や ISO/SAE 21434 (2021 年) のようなセキュリティ設計ガイドラインである。これらは IT 製品の脆弱性評価を行う標準をベースに、安全、金銭、運用、プライバシーなどの観点を盛り込んだ手法により、自動車システムに対する攻撃容易性や受けた損害の深さ

を評価する。さらに後者は製品リリース後のセキュリティリスクの再評価などの回帰的なリスクマネジメントについても定めており、より実的なものとなっている。

さて、セキュリティ設計におけるリスク分析についての課題は4つあり、(1) 時間・コスト・リソース総量の節約、(2) 時間やコストの面でネックとなるセキュリティ専門家の判断に依存し過ぎない分析手法の実現、(3) 脅威抽出における網羅性の担保、および(4) 分析対象のシステムの実情に沿った適切な分析、である。セキュリティ設計を開発者が主体的に進められ、分析の抜け漏れを防ぎつつ効率良く実施でき、かつ分析対象の実情に沿ったリスク分析が求められる。

本研究ではリスク分析手法に着目し、上記4つの課題を解決できるリスク数値化手順を研究してきた。まず課題(3)の解決には、脅威を攻撃の入り口、目的地、および資産の組合せでリストアップすることで網羅性を担保する「資産コンテナ方式」を考案した。次に課題(1)(2)の解決には、資産コンテナ方式により詳細な分析が必要な重要脅威だけふるいにかける「2ステップリスク分析」を提案した。そして、課題(4)の解決には、「資産コンテナ方式」と「2ステップリスク分析」に適し、かつ自動車システム特有の領域や観点に沿って、より精密な差別化が可能なリスク数値化手法の研究を行った。

本論文ではソフトウェアの脆弱性評価基準のひとつであるCWSS(Common Weakness Scoring System)をサイバーフィジカルシステムに適用し、メトリックの評価基準をカスタマイズした提案手法、「RSS-CWSS_CPS」における研究をまとめた。そしてリスク数値化手法「RSS-CWSS_CPS」がサイバーフィジカルシステムにおける脅威を検知する際にどういった観点を重視しているか、CWSSの計算式についてメトリクスごとに偏微分する詳細分析を行った。最後にケーススタディを踏まえ、CAN インベダーに代表される、自動車システムへのダイレクトアクセス攻撃について評価した。ダイレクトアクセス攻撃は実際にサイバー犯罪に有効であるにも関わらず、従来のリスク数値化手法では遠距離無線通信経路の攻撃と比べリスクが低いとされていた。しかし本方式ではダイレクトアクセス攻撃も重要脅威として抽出され、このリスク数値化手法が実情に沿った分析結果が出せることが確認できた。

論文審査結果の要旨

本博士学位論文は、自動車システムにおけるサイバーフィジカルシステムのセキュリティ設計におけるリスク分析についての課題の整理と、それらの解決のための手法を提案し、そして実際の攻撃に適用し評価を行っている。まず脅威を攻撃の入り口、目的地、および資産の組合せでリストアップすることで網羅性を担保する資産コンテナ方式を考案し、次に資産コンテナ方式により詳細な分析が必要な重要脅威だけふるいにかける2ステップリスク分析を提案している。そして、資産コンテナ方式と2ステップリスク分析に適し、かつ自動車システム特有の領域や観点に沿って、より精密な差別化が可能なリスク数値化手法の研究を行うことで、CWSSをサイバーフィジカルシステムに適用しメトリックの評価基準をカスタマイズした提案手法RSS-CWSS_CPSにおける研究をまとめている。そしてリスク数値化手法RSS-CWSS_CPSがサイバーフィジカルシステムにおける脅威を検知する際にどういった観点を重視しているかについて、CWSSの計算式についてメトリクスごとに偏微分する詳細分析を行っている。また、近年問題になっているCAN インベダーに代表される自動車システムへのダイレクトアクセス攻撃について適用することで本攻撃も

重要脅威として抽出されることを確認し、提案したリスク数値化手法の有効性を明らかにしている。以上より、本博士学位論文は学術的かつ社会的に有用で価値ある研究である。

本提案手法による具体的成果は次の3点に集約される。1点目は、ソフトウェアの脆弱性評価基準であるCWSSに物理的/論理的なネットワーク構造や物理的境界を解釈する観点を加えることにより、サイバーフィジカルシステムのリスク分析を行えるリスク数値化手RSS-CWSS_CPSを考案したことである。RSS-CWSS_CPSは、攻撃被害者所有の情報のみを使用してリスク値を算出する、資産コンテナ方式に適用しつつ、分析対処モデルのネットワーク構造や物理的境界を持つサイバーフィジカルシステムのリスク、特に自動車システムへのダイレクトアクセス攻撃のリスクを算出できるという利点を持つ。2点目は、ダイレクトアクセス攻撃の前提条件を設定し、これにRSS-CWSS_CPSを自動車システムの分析対象モデルに適用したケーススタディを行うことで、既存のリスク数値化手法であるCRSSやISO/SAE 21434 TARAのCVSS-based approachとの比較評価を行うことで、ダイレクトアクセス攻撃を検知できることを確認したことである。CRSSとRSS-CWSS_CPSのメトリックの重み配分を比較分析するなど定量的な評価を行い、ダイレクトアクセス攻撃が検出できる根拠を示した。RSS-CWSS_CPSは、ICTシステムの特性だけでなく、サイバーフィジカルシステムの物理的/論理的構造や境界をより柔軟に定量化するのに適切かつ十分なメトリクスとランクを備えている。3点目は、ケーススタディで得られたデータを元に、計算式の解析やデータの統計分析を行うことで、RSS-CWSS_CPSと既存手法とで重要視している観点の違いや、実際の数値のばらつきを評価したことである。TARAプロセスにおいて資産が損害を受けることでの影響度の評価に用いられているS、F、O、Pの観点と、RSS-CWSS_CPSのメトリックTI、BIとの関連性についても触れ、メトリックTIとBIを用いることにより影響度の評価をより細かく行えるなど、資産コンテナ方式に基づいた効率の良いリスク分析手法を行える可能性についても言及している。

以上の本博士学位論文にもとづき、2024年7月12日にオンラインで副査の秋山教授と林原教授による予備調査会を実施した。その後、予備調査会で頂いた複数の指摘事項に基づき博士学位論文を修正し、2024年8月7日(水)3限に15号館15102セミナー室で先端情報学研究科博士学位論文公聴会を実施した。公聴会の参加者からの提案手法および評価結果に対する活発な質疑応答を通して、先端情報学分野における当該研究の新規性および有用性がより明確になり、今後の研究の発展性も検討できた。また、審査として提出された学術成果より、本研究の主な学術成果としては、電子情報通信学会の英文論文誌AおよびIEEE Accessでの計2本のジャーナル論文採択であり、専門分野の査読者における国際的な客観的評価がなされており学術成果は十分といえる。なお、研究科が定める学位審査基準「本審査を開始するまでに、学術雑誌、又は国際会議で査読付き研究論文を2報以上発表」を満たしている。

以上、先端情報学研究科博士学位論文公聴会および学外専門分野研究者の査読による学術成果を踏まえ、博士学位論文として十分な内容を有すると判断し、審査委員全員の一致で本博士学位論文調査結果は合格と判定する。

氏 名（本 籍）	堤 智香（滋賀県）
学 位 の 種 類	博士（生命科学）
学 位 記 番 号	甲生 第 10 号
学位授与年月日	令和 6 年 9 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	小胞体チオレドキシシン様タンパク質 ERp18 の亜鉛イオン依存的な 活性制御機構の解明
論文審査委員	主 査 潮 田 亮 准教授
	副 査 遠 藤 斗志也 教授
	〃 津 下 英 明 教授

論 文 内 容 の 要 旨

小胞体は、タンパク質の酸化的フォールディングを行う重要な細胞小器官である。酸化的フォールディングの過程で生成される過酸化水素 (H_2O_2) は、適切に制御されなければ酸化ストレスや細胞老化の原因となる。ERp18 は小胞体に局在するチオレドキシシン様タンパク質であり、亜鉛イオン (Zn^{2+}) 依存的に活性を制御することで H_2O_2 分解に関与するメカニズムを持つ。本研究は、ERp18 の Zn^{2+} 依存的な活性制御機構とその生理的意義を明らかにすることを目的としている。本研究では、哺乳類細胞を用いて ERp18 を発現させ、 Zn^{2+} 依存的な三量体形成と H_2O_2 分解活性を詳細に解析した。ERp18 は亜鉛結合モチーフである HXXXCXXC を介して Zn^{2+} と結合し、この結合により三量体化することが示された。特に、HXXXCXXC モチーフの変異解析を行い、このモチーフが Zn^{2+} 結合に不可欠であることを確認した。 Zn^{2+} と結合した ERp18 は、三量体として H_2O_2 を分解するカタラーゼ様の機能を獲得する。この反応は H_2O_2 を水と酸素に分解し、小胞体内の酸化還元バランスを維持する。さらに、ERp18 欠損細胞を用いた実験では、小胞体内の H_2O_2 分解活性が著しく低下し、 H_2O_2 の蓄積が観察された。これは、ERp18 が小胞体内で H_2O_2 を適切に分解するために重要な役割を果たしていることを示している。また、ERp18 ノックダウン線虫を用いた実験では、これらの線虫の寿命が短縮することが確認され、ERp18 が細胞老化の抑制および個体の生存率上昇に寄与していることが示唆された。ERp18 の Zn^{2+} 依存的な活性制御機構の解明は、酸化ストレス応答の理解を深めるとともに、酸化ストレス関連疾患の新たな治療戦略の開発に貢献する可能性がある。ERp18

が持つカタラーゼ様の H_2O_2 分解機能は、小胞体内の酸化ストレスを緩和し、細胞の恒常性を維持するための重要なメカニズムである。さらに、ERp18 の機能を調節する Zn^{2+} の役割についての知見は、金属イオンの細胞内動態とタンパク質機能の関係を理解する上で重要である。この知見は、細胞内の酸化ストレス応答に関する基礎的理解を深め、将来的な疾患治療への応用可能性を示唆するものである。特に、酸化ストレス関連疾患に対する新たな治療法の開発に向けた重要な一歩となることが期待される。

以上、本研究は小胞体内の H_2O_2 分解機構における ERp18 の役割を分子レベルで詳細に解明し、酸化ストレス応答および細胞老化の制御に関する新たな視点を提供するものである。この成果は、今後の酸化ストレス関連研究および疾患治療において重要な基盤となることが期待される。

論文審査結果の要旨

本学位論文は、小胞体チオレドキシン様タンパク質ERp18の亜鉛イオン依存的な活性制御機構を明らかにしたものである。ERp18は、小胞体内でのジスルフィド結合形成に重要な役割を果たし、その活性は酸化ストレス応答や細胞老化に関連する。ERp18の亜鉛結合モチーフである HXXXCXXC の変異解析や、質量分析を用いた三量体化の確認など、多岐にわたる実験手法を用いてそのメカニズムを詳細に解析している。ERp18が亜鉛イオン依存的に三量体化することでジスルフィド還元活性を失い、その代わりに H_2O_2 分解活性を獲得することが示されている。具体的には、ERp18が亜鉛イオン (Zn^{2+}) に結合して三量体を形成し、これにより H_2O_2 分解活性を獲得することを明らかにした。細胞において、ERp18欠損は小胞体の H_2O_2 分解活性が破綻し、小胞体からの H_2O_2 漏出およびこれにより細胞老化を促進していることが示された。個体（線虫）でのERp18の役割を調べるために、ERp18ノックダウン線虫のライフスパンを測定すると野生型と比較して生存率が低下することが示された。

本研究の意義は、亜鉛イオンがERp18の活性を制御するメカニズムを明らかにし、小胞体内での酸化還元バランスの維持に寄与する新たな知見を提供した点にある。ERp18の亜鉛依存的な活性制御メカニズムは、小胞体ストレス・酸化ストレス応答の理解を深め、これら関連疾患の治療法開発における新たなターゲットとしての可能性を示唆している。

本研究に関する内容は、国際学術誌「Cell Reports 443(2) (2024)」に掲載され、主査および副査から構成される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、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6年8月6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できた。

以上、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。

氏 名（本 籍）	岩本 駿吾（京都府）
学 位 の 種 類	博士（生命科学）
学 位 記 番 号	甲生 第 11 号
学位授与年月日	令和 6 年 9 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	低容量糖代謝ストレスを介したがん幹細胞性制御機構の解明
論文審査委員	主 査 板 野 直 樹 教授
	副 査 加 藤 啓 子 教授
	〃 潮 田 亮 准教授

論 文 内 容 の 要 旨

がん幹細胞（CSCs）は、自己複製によりがん幹細胞を生み出すと同時にがん細胞に分化し、腫瘍形成に働くとされている。また、がん幹細胞は化学療法や放射線治療に耐性をもち、がん再発の主要因であると考えられている。近年では、乳がんや大腸がん、膵臓がんなど様々ながん種でがん幹細胞の存在が明らかとなっており、がん幹細胞とがん細胞の相互変換を制御する細胞内代謝の重要性が注目されている。またこれまでの研究では、悪性乳がん細胞でヒアルロン酸が過剰に産生されていることや、ヒアルロン酸過剰産生乳がん細胞において、高い造腫瘍能や自己複製能を示すがん幹細胞様の細胞の割合が増加することが明らかとなっている。

ヒアルロン酸は、*N*-アセチル-D-グルコサミン（GlcNAc）と D-グルクロン酸（GlcUA）の二糖繰り返し構造からなる高分子多糖で、細胞内の糖ヌクレオチドであるウリジン二リン酸（UDP）-GlcNAc と UDP-GlcUA を合成基質として合成される。ヒアルロン酸は巨大な糖鎖分子であり、その生合成に糖供与体である UDP-GlcNAc や UDP-GlcUA を大量に必要とする。そこで本研究では、ヒアルロン酸産生による糖代謝の変化とがん幹細胞性との関連に着目して以下の研究を行った。

まず、細胞における糖鎖構造の網羅的解析を行い、ヒアルロン酸過剰産生乳がん細胞における *N*-結合型糖鎖前駆体であるトリコール結合オリゴ糖（LL0）の著しい減少と *N*-結合型糖鎖プロファイルの特徴的な変化を明らかにした。UDP-GlcNAc はヒアルロン酸生合成に必要な糖供与体であると同時に、LL0 や *N*-結合型糖鎖の合成に必要な糖供与体でもある。従って、ヒアルロン酸過剰

産生乳がん細胞では、LL0 合成および *N*-結合型糖鎖修飾反応への UDP-GlcNAc の供給不足が、*N*-結合型糖鎖プロファイルの変化の要因であると考えられた。そこで次に、*N*-結合型糖鎖修飾阻害剤であるツニカマイシン (TM) や解糖系阻害剤 2-デオキシ-D-グルコース (2-DG) の低用量処理により、対照乳がん細胞の LL0 合成と *N*-結合型糖鎖修飾を部分的に阻害し、がん幹細胞性と抗がん剤のシスプラチンに対する耐性について解析した。その結果、低用量の TM あるいは 2-DG 処理により、がん幹細胞様細胞が増加し、がん幹細胞性の指標であるマンモスフィア形成とシスプラチン耐性が亢進した。RNA-seq と Gene Set Enrichment 解析は、低容量の糖代謝ストレスに曝された対照乳がん細胞で、Notch シグナル伝達経路が活性化していることを明らかにした。また、阻害剤による Notch シグナル伝達の遮断、あるいはグルコサミン (GlcN) とマンノース (Man) 添加による *N*-結合型糖鎖修飾の回復は、マンモスフィア形成とシスプラチン耐性を減弱した。以上の結果は、低容量の糖代謝ストレスが、*N*-結合型糖鎖修飾の変化と Notch シグナルの活性化を通じて、がん細胞のがん幹細胞性と抗がん剤耐性を促進することを示唆している。

論文審査結果の要旨

本学位論文は、低容量の糖代謝ストレスががん幹細胞性を促進する機構について調査したものである。

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、がん幹細胞性やその特徴の一つである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。

本研究では、ヒアルロン酸糖鎖の過剰産生によって引き起こされる低容量の糖代謝負荷が、がん幹細胞性の促進や抗がん剤抵抗性の獲得に果たす役割について解析し、以下の結果を得た。まず、乳がん病態モデルマウスより樹立した初代乳がん細胞とヒアルロン酸過剰産生乳がん細胞を用いて、グライコミクスによる糖鎖の包括的プロファイリングを実施し、ヒアルロン酸の過剰産生が *N*-結合型糖鎖に質的・量的変化をもたらすことを明らかにした。ヒアルロン酸過剰産生がん細胞では、対照がん細胞に比べて、パウチマンノース型や短いハイマンノース型糖鎖の割合が増加し、逆に長いハイマンノース型糖鎖の割合が減少することを示した。そして、末端に $\alpha 2,6$ シアル酸構造を有する糖鎖の割合が増加し、末端に $\alpha 2,3$ シアル酸構造を有する糖鎖やバイセクティングGlcNAc分岐構造を持つ糖鎖の割合が減少することを示した。さらに、HPLC 分析を実施し、ヒアルロン酸過剰産生細胞では、*N*-結合型糖鎖修飾に必須の糖ヌクレオチドおよび成熟型ドリコール結合オリゴ糖が有意に減少していることを明らかにした。ヒアルロン酸は、*N*-アセチルグルコサミンとグルクロン酸の繰り返し構造を持つ高分子多糖であり、細胞内糖ヌクレオチドであるUDP-*N*-アセチルグルコサミンとUDP-グルクロン酸を基質としてヒアルロン酸合成酵素により生合成される。よって以上の結果は、ヒアルロン酸過剰産生による糖ヌク

レオチドの消費が、糖代謝に持続的な負荷をかけ、*N*-結合型糖鎖の量や構造に影響を及ぼしたことを示唆している。

そこで、低濃度のツニカマイシンで対照乳がん細胞を長期間処理して*N*-結合型糖鎖修飾を部分的に阻害し、がん幹細胞性への影響について検討した。その結果、ヒアルロン酸過剰産生と同様に、低濃度のツニカマイシン処理により、*N*-結合型糖鎖のプロファイルが変化し、がん幹細胞様細胞が増加することを見出した。RNA-seq網羅的遺伝子発現解析により、ツニカマイシン処理細胞では、がん幹細胞性の制御にはたらくとされるNotchシグナルやWnt/ β -カテニンシグナルが活性化していることを明らかにした。さらに、ヒアルロン酸過剰産生や低濃度のツニカマイシン処理による持続的な糖代謝負荷が、抗がん剤シスプラチンに対する耐性を増強すること、一方、グルコサミンやマンノースによる糖代謝負荷の軽減が、シスプラチン抵抗性を減弱することを示した。以上の結果は、持続的かつ低容量の糖代謝負荷が、がん幹細胞性を促進して、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。本研究により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。そして本論文に関する内容は、国際専門雑誌であるCell Death & Disease. 15(1):53 (2024)に掲載されている。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6年8月6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、質疑応答に対して的確に回答されていた。

以上より、本論文は、博士(生命科学)の学位を授与するに値するものであり、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すると認められ、論文審査及び最終試験に合格と判定する。