

氏名	ひがしつじ すずき ひさこ 東 辻 (鈴木) 久 子
学位の種類	博 士 (医 学)
学位記番号	論 医 博 第 1829 号
学位授与の日付	平 成 15 年 5 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	A novel protein overexpressed in hepatoma accelerates export of NF- κ B from the nucleus and inhibits p53-dependent apoptosis. (肝がんに過剰発現している新規の蛋白はNF- κ Bの核外輸送を促進しp53依存性アポトーシスを阻害する)
論文調査委員	(主 査) 教 授 千 葉 勉 教 授 山 岡 義 生 教 授 藤 井 信 吾

論 文 内 容 の 要 旨

肝細胞癌に対する治療は種々の方法があるが、現在のところ予後はよいとはいえない。肝細胞の癌化に関係ある遺伝子を同定するため、cDNAサブトラクション法により肝細胞癌に過剰発現している新規の遺伝子をいくつか同定した。この論文ではその内の一つであるHSCO (hepatoma-derived substracted clone one) 遺伝子の塩基配列及びたんぱくのアミノ酸配列、その機能について報告した。HSCOはそのアミノ酸配列から、metallo- β -lactamase superfamilyに保存された配列をもつことが確認された。このファミリーは酵母、線虫、ショウジョウバエ、シロイヌナズナでもホモログが報告されており、この論文ではマウスとヒトの配列を報告した。HSCOのmRNAは分析した肝癌症例30例中20例で過剰発現していた。HSCO発現と肝炎ウイルス感染、組織学的悪性度、門脈浸潤、進行度などの臨床病理学的所見との有意な関連は証明されなかった。HSCOの肝癌発生における役割を検討するため、NIH/3T3細胞にHSCOをstableに過剰発現させたが細胞の形態、増殖速度、足場非依存性の増殖に影響を与えなかった。次にアポトーシスに対する影響を検討した。アドリアマイシン、エトポシドなどの抗腫瘍薬とTNF α はp53依存性及び非依存性アポトーシスを誘導することが報告されている。HSCOを過剰発現したNIH/3T3細胞はアドリアマイシン、エトポシドで誘導されるアポトーシスに対して抵抗性を示したが、TNF α 誘導アポトーシスに対してはより感受性を増した。Ryanらは2000年にNature誌でp53を介したアポトーシスにNF κ B活性化が必要であることを示した。HSCOがこのNF κ B依存性アポトーシスに関わっているかを検討するため、内因性p53のないSaos-2にテトラサイクリンでp53が誘導されるcell lineを得た。この細胞をテトラサイクリン処理するとアポトーシスが誘導されるが、NF κ Bの活性化を抑制するsuper-repressor I κ B α (SRI κ B α)をさらに発現させるとアポトーシス誘導が阻害される。HSCOはSRI κ B α と同程度p53誘導アポトーシスを阻害した。HSCOのNF κ B転写活性に対する効果をreporter gene assayにより検討すると種々の方法で誘導されるNF κ B活性がHSCOで抑制された。HSCOはI κ B α のリン酸化に影響せず、HSCOのNF κ B活性阻害はI κ B α を介したものではないと思われた。HSCOとNF κ Bの一つであるRelAは、共沈及びGST pull down assayにより、in vivo, in vitroにおいて結合していることが示された。HSCOがNF κ B活性を阻害する機序を検討するため、electrophoretic mobility shift assayによりNF κ BのDNA結合能に対するHSCOの影響をみた。HSCOの濃度依存性にNF κ BのDNA結合量は減少した。免疫組織染色によりHSCOは細胞質と核の両方に局在しているが、核外移行を阻害する薬剤レプトマイシンB処理で核に集積し、HSCOは細胞質と核の間をシャトルすることが示唆された。NF κ BのRelAとHSCOを細胞内で共発現させると、RelAとHSCOは共に細胞質に局在する。まとめると、HSCOはNF κ BのRelAと結合しNF κ Bの核から細胞質への輸送を促進することにより、NF κ B依存性p53誘導アポトーシスを抑制し、肝癌発現に寄与している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

肝癌の発生にはウイルス感染などが関与していると指摘されているが、その分子メカニズムは十分解明されていない。本研究では肝癌発生に関与する遺伝子を見出すためcDNAサブトラクション法を行い、肝癌に過剰発現している新規の遺伝子HSCO (hepatoma-derived subtracted clone one) を同定し、その機能について検討した。

HSCOのmRNAは解析した肝癌症例30例中20例で過剰発現しており、免疫組織染色でHSCOは腫瘍細胞の細胞質に検出された。HSCOの強発現はDNA損傷因子で誘導されるp53依存性アポトーシスに抵抗性を示した。次にp53依存性アポトーシスにその活性化が必要であると報告されたアポトーシス関連転写因子NF κ BとHSCOとの関係を検討した。HSCOはNF κ Bの一つであるRelAと複合体を形成した。HSCOはNF κ B阻害因子であるI κ B α と同様に、濃度依存性にNF κ BのDNA結合能を抑制した。また、HSCOは核-細胞質間移行蛋白であり、HSCOの強発現はRelAの核外移行を促進した。これら結果より、肝癌で過剰発現する蛋白HSCOはNF κ Bの一つであるRelAの機能を阻害することにより、NF κ Bを介したp53依存性アポトーシスを抑制し、肝癌発生に寄与している可能性が示唆された。

以上の研究は肝癌の発生機序の解明に貢献し、肝癌の分子腫瘍学に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成15年3月17日実施の論文内容とそれに関連した研究分野ならびに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。