

京都大学	博士 (医学)	氏 名	劉 宇
論文題目	Overexpression of gankyrin in mouse hepatocytes induces hemangioma by suppressing factor inhibiting hypoxia-inducible factor-1 (FIH-1) and activating hypoxia-inducible factor-1 (ガンキリンのマウス肝細胞における過剰発現は低酸素誘導因子 1 阻害因子 (FIH-1)を抑制して低酸素誘導因子 1 を活性化することにより血管腫を誘発する)		
(論文内容の要旨)			
<p>肝細胞がんは、近年欧米でも症例が増加し、世界的に重要な悪性腫瘍となっている。ガンキリンは、ヒト肝細胞がん組織で常に発現が亢進しているがんタンパク質で、がん抑制タンパク質 Rb と結合して E2F-1 を活性化する。さらに、がん抑制タンパク質 p53 の分解にかかわる MDM2 のユビキチンリガーゼ活性を促進し、p53 のプロテアソームによる分解を促進することにより、造腫瘍能と抗アポトーシス作用を示す。</p> <p>ガンキリンによる生体内での発がんメカニズムを解析するために、肝細胞で特異的にガンキリンを過剰発現するトランスジェニックマウスを作製した。興味深いことに、これらのトランスジェニックマウスは肝細胞がんではなく、血管内皮由来の腫瘍（血管腫／血管肉腫）を発症した。トランスジェニックマウスを用いた化学発がんモデルとガンキリン過剰発現肝がん細胞株の皮下腫瘍移植モデルでは、コントロールに比べて血管増殖領域の増加が認められた。定量的 PCR とウェスタンブロット法を用いた解析では、トランスジェニックマウスの肝臓とガンキリン高発現細胞では、重要な血管新生因子である血管内皮細胞増殖因子-A (VEGFA)の増加が検出された。</p> <p>VEGFA の発現は、低酸素誘導因子 1 (HIF-1) により制御されている。また、HIF-1 の量はプロリン水酸化酵素による特定の Pro の水酸化により、HIF-1 の転写活性は低酸素誘導因子 1 阻害因子 (FIH-1) による Arg の水酸化により制御されている。ガンキリントランスジェニックマウス肝組織や培養肝がん細胞株で、ガンキリンの発現状態は HIF-1 の発現量に影響を与えなかった。しかし、低酸素応答エレメント (HRE) を用いたレポーターアッセイでは、HRE の転写活性が 3%酸素存在下でガンキリンにより促進された。さらに、HIF-1 の転写活性を GAL4 を利用したレポーターアッセイで解析したところ、ガンキリンが HIF-1 の転写活性を促進すること、これが FIH-1 を介することが示された。3%酸素存在下での培養細胞を用いた共免疫沈降法により、ガンキリンと FIH-1 が結合し、ガンキリン発現の増加により FIH-1 と HIF-1 の結合が減少することが示された。しかし、この現象は 20%あるいは 1%酸素濃度下では、殆ど認められなかった。</p> <p>ガンキリンがマウス肝細胞において過剰発現すると血管腫を誘発すること、この現象はガンキリンが FIH-1 と HIF-1 の結合を阻害して VEGFA の産生を亢進させるためであることが明らかとなった。また、ガンキリンが細胞環境中の酸素濃度に応じて FIH-1 活性を制御することにより、低酸素ストレス応答に関与する可能性が示唆された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

ヒト肝がんにおける発現亢進から見いだされたガンキリンは、7つのアンキリンリピートよりなるがんタンパク質で、種々のタンパク質と相互作用して機能する。例えば、がん抑制タンパク質 Rb と結合して細胞増殖を促進する。MDM2 に結合してがん抑制タンパク質 p53 の分解を促進し、抗アポトーシス活性を示す。申請者は、ガンキリンの生体における発がん能を検証するために、肝細胞で特異的にガンキリンを高発現するトランスジェニックマウスを作製したところ、肝血管腫・血管肉腫の発生を認めた。そこで、化学発がん剤でトランスジェニックマウスに肝がんを発生させ、あるいはガンキリンを高発現させたマウス肝がん細胞を皮下移植して腫瘍を形成させ、ガンキリンが血管内皮細胞の異常な増殖を誘発すること、これが血管新生因子 VEGFA の発現亢進による可能性を示した。さらに VEGFA 発現亢進の分子機序を解析し、HIF-1 阻害活性をもつ FIH-1 にガンキリンが結合し、FIH-1 と HIF-1 との結合を阻害するために HIF-1 活性が亢進して VEGFA 発現が亢進すること、この作用は酸素濃度に依存しており、3%酸素存在下では認められるが 1%や 20%酸素濃度では認められないことを示した。以上の研究は、がんタンパク質であるガンキリンの新しい機能を明らかにし、低酸素ストレス応答や血管新生のメカニズムの解明に貢献し、がんの診断や治療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 25 年 3 月 18 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降