

氏 名	劉 玉 婷
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 3218 号
学位授与の日付	平 成 20 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 病 理 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Chronic oxidative stress causes amplification and overexpression of ptpnz1 protein tyrosine phosphatase to activate β -catenin pathway (酸化ストレスによる腎癌モデルにおいては ptpnz1 の増幅と高発現により β -catenin 経路が活性化される)
論文調査委員	(主 査) 教 授 鍋 島 陽 一 教 授 小 川 修 教 授 淀 井 淳 司

論 文 内 容 の 要 旨

過剰な活性酸素・フリーラジカルの発生は発がんに関連している。鉄は人体において最も多く含まれる遷移金属であり、過剰の鉄は活性酸素発生の触媒となることより発がんのリスクとなることが疫学的に知られている。しかし、その詳細なメカニズムは明らかではない。一方、鉄キレート剤である鉄ニトリロ三酢酸 (Fe-NTA) をラット腹腔内に投与すると腎近位尿細管でフェントン反応による細胞傷害を起こすことが知られる。また、その連続投与は高率に腎癌を誘発する。本研究においては、Comparative genomic hybridization (CGH) と発現遺伝子マイクロアレイ解析を併用することにより、本腎発がんモデルにおける遺伝子変動の網羅的な解析を行ない、重要な癌関連遺伝子を選出しその意義を検討した。腎癌 15 サンプルの CGH 解析を行なうと、ラット染色体 4 番のセントロメア近傍に共通したゲノム増幅領域を認めた。この結果と腎癌 4 サンプルの遺伝子発現マイクロアレイ解析より、染色体の 4q22 に存在する protein tyrosine phosphatase (ptpnz1) に着目した。ゲノムレベルでの遺伝子増幅は定量的 PCR 法ならびに fluorescent in situ hybridization 法で確認し、mRNA レベルならびに蛋白レベルの増加も確認を行なった。次に、免疫沈降法で検討を行なうと、ptpnz1 と β カテニン は細胞内で結合しており、 β カテニンのチロシン残基のリン酸化が ptpnz1 に依存する可能性を見出した。この仮説を検証するため、ラット腎上皮由来の非トランスフォーム細胞株 NRK52E に ptpnz1 を遺伝子導入する実験と、Fe-NTA 投与誘発腎癌の細胞株 FRCC001、FRCC562 において siRNA を使用して ptpnz1 の発現を抑制する実験を施行した。すると、構築実験系において、 β カテニンのチロシンリン酸化は ptpnz1 により制御され、脱リン酸化状態において β カテニンは核内へ移行し、下流の c-myc、cyclinD1、c-jun、fra-1、CD44 などの β カテニン標的遺伝子の発現を誘導できることが明らかとなった。この経路は従来の Wnt シグナル経路をバイパスするものであることが判明した。本実験により、慢性的な酸化ストレス状態が動物の臓器のレベルで遺伝子増幅を惹起することを初めて証明した。その結果、詳細な検討により見出された ptpnz1 遺伝子は、 β カテニンと結合してそのチロシン残基のリン酸化を制御することにより、新たな増殖シグナルの起点となることが明らかとなった。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

酸化ストレスの発癌への関与が疫学的な事実などより示唆されるが、その詳細は明らかではない。鉄ニトリロ三酢酸をラット腹腔内に反復投与すると、腎近位尿細管で酸化ストレスを惹起し、腎癌が高率に発生する。腎癌 15 個のゲノムアレイ解析を行なうと、ラット染色体 4 番のセントロメア近傍に共通増幅領域を認めた。腎癌 4 例の発現アレイ解析の結果と照合し、4q22 にある protein tyrosine phosphatase (ptpnz1) に着目した。その遺伝子増幅と mRNA 及び蛋白レベルの増加を確認した。ネットワーク解析で β カテニンの関与が示唆された。ラット腎癌細胞株を使用した免疫沈降法により、ptpnz1 と β カテニンの相互作用を見出した。腎尿細管由来非トランスフォーム細胞株 NRK52E には ptpnz1 を遺伝子導入し、腎癌細胞株には siRNA を使用して ptpnz1 の発現を抑制する実験を行った。すると、ptpnz1 は β カテニンのチロシンリン酸化を制

御しており、チロシン脱リン酸化 β カテニンが核内へ移行し、その下流の標的遺伝子の発現を誘導することが判明した。本研究により、慢性的酸化ストレスは遺伝子増幅の一因であり、**ptprzl**の増幅を介した β カテニンシグナル伝達系の活性化を起こすことにより発癌に寄与することが明らかとなった。

以上の研究は酸化ストレス発がん機構の解明に貢献し、その予防法の開発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 20 年 1 月 23 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。