

京都大学	博士（医学）	氏 名	池内 香子
論文題目	Attenuation of proteolysis-mediated cyclin E regulation by alternatively spliced Parkin in human colorectal cancers. (ヒト大腸癌における Parkin 遺伝子スプライシング変化による CyclinE タンパク制御異常)		
(論文内容の要旨)			
Parkin は家族性パーキンソン病の原因遺伝子として同定され、E3 ライゲースとしてユビキチン・プロテアソーム系においてさまざまな基質タンパクの分解制御に関与していることが知られている。しかしながら、近年、Parkin 遺伝子がさまざまなヒト癌組織で欠損していることや、Parkin ノックアウトマウスで癌の発生をみることから、Parkin が癌抑制遺伝子として機能している可能性が示唆されるようになってきた。興味深いことに Parkin の E3 ライゲースとしての基質候補のひとつが CyclinE であることが示されている。そこで本研究は、大腸上皮細胞における Parkin の発現と細胞周期の制御への関与を検討することにより、大腸癌の発生過程における Parkin の癌抑制遺伝子としての役割を明らかにすることを目的とした。 まず、ヒト大腸上皮細胞における Parkin の発現の検討をおこなったところ、増殖因子である Epidermal Growth Factor (EGF)や Hepatocyte Growth Factor (HGF)刺激を加えることにより、Parkin の発現が mRNA 及びタンパクレベルでともに有意に亢進することが明らかになった。EGF 刺激下流の細胞内シグナル伝達経路としては、主に MAPK を介する経路と PI3 kinase-AKT を介する経路が知られている。そこでヒト大腸上皮細胞において EGF 刺激による Parkin の発現誘導がどちらの経路を介するか検討を行ったところ、PI3 kinase 阻害剤存在下で抑制されることが確認された。逆に Akt 発現により Parkin 転写が誘導されることも確認され、大腸上皮細胞では増殖因子刺激により主に PI3 kinase-AKT シグナル伝達経路を介して Parkin が転写誘導されることが明らかとなった。 次に、Parkin がヒト大腸上皮細胞において CyclinE タンパクの分解制御に関与しているかどうかを検討した。ヒト大腸培養細胞に野生型 Parkin を発現させたところ、細胞内の CyclinE タンパク量の減少を認めたが、E3 ライゲース活性を欠く変異型 Parkin を発現させた場合には CyclinE タンパク量に変化を認めなかった。逆に、siRNA を用いて内在性 Parkin をノックダウンしたところ、EGF 刺激後に誘導される CyclinE タンパクの分解が生じなくなることがわかった。以上より、大腸上皮細胞において Parkin は CyclinE タンパクの分解制御に関与していることが明らかとなった。 最後にヒト大腸癌症例における Parkin の発現を検討したところ、18/43(42 %)の大腸癌組織においてさまざまな exon 領域の欠失を伴った splicing variant が腫瘍組織特異的に発現していることがわかった。これらの Parkin splicing variant をクローニングし in vitro において大腸上皮細胞に発現させたところ、腫瘍組織特異的な splicing variant は CyclinE タンパク分解能を欠損していることが確認された。 本研究により、ヒト大腸上皮細胞において増殖因子刺激により細胞周期依存性に Parkin が発現誘導され、CyclinE タンパクの分解を介して、細胞周期の制御に寄与していることがわかった。また、ヒト大腸癌細胞では CyclinE 分解能を欠損した腫瘍特異的な Parkin splicing variant が発現していることが明らかとなり、Parkin の splicing の変化が癌細胞の増殖異常に関与している可能性が示唆された。			

(論文審査の結果の要旨) Parkinは家族性パーキンソン病の原因遺伝子として同定され、E3リガーゼとしてユビキチン・プロテアソーム系においてさまざまな基質タンパクの分解制御に関与していることが知られている。しかしながら、近年、Parkinが癌抑制遺伝子として機能している可能性が示唆されるようになってきた。 申請者らは、ParkinのE3リガーゼとしての基質候補のひとつがCyclinEであることに着目し、本研究では大腸上皮細胞におけるParkinの発現と細胞周期の制御への関与の検討を行った。 ヒト大腸上皮細胞において、増殖因子であるEpidermal Growth Factor (EGF) 刺激を加えることにより、Parkinの発現が亢進することを明らかにした。このEGF刺激下流の細胞内シグナル伝達経路としては、主にPI3 kinase-AKTシグナル伝達経路を介してParkinが転写誘導されることを示した。ヒト大腸癌臨床検体の解析からは、一部の大腸癌組織においてさまざまなsplicing variantsが腫瘍組織特異的に発現していること、腫瘍組織特異的なParkin splicing variantsはCyclinEタンパク分解を誘導する活性を欠損していることを示唆した。 以上の研究は、ヒト大腸癌の発生・進展過程における細胞周期制御異常の分子機構の解明に貢献し、癌研究の発展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のあるものと認める。なお、本学位申請者は平成21年8月20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			