

氏 名	よし ばやし ひろ し 芳 林 浩 史
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 3090 号
学位授与の日付	平 成 19 年 3 月 23 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 外 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	SIAH1 causes growth arrest and apoptosis in hepatoma cells through β -catenin degradation-dependent and -independent mechanisms (SIAH1 による β カテニン分解依存性及び非依存性メカニズムを介した肝癌細胞の増殖抑制またはアポトーシス誘導に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 千 葉 勉 教 授 上 本 伸 二 教 授 武 藤 誠

論 文 内 容 の 要 旨

肝細胞癌（HCC）の遺伝子レベルにおける発癌のメカニズムを解明するために HCC の臨床検体を用いてヘテロ接合性消失（LOH）の検討をおこなった。その結果、16q12 に高頻度で LOH を認め、同領域に位置する SIAH1 遺伝子の発現低下が高頻度に認められた。さらに SIAH1 遺伝子の発現低下が HCC の進行度と関連することを報告した。

また SIAH1 は APC と複合体を形成し β -catenin をリン酸化非依存性に分解して wnt signal 伝達系（Wnt 系）を抑制し、細胞増殖の抑制やアポトーシスを誘導することが報告されている。HCC においては約50%に β -catenin の異常蓄積を認めるが既知の β -catenin, Axin の遺伝子異常は約30%にしか認められず、 β -catenin の異常蓄積に SIAH1 遺伝子の発現低下も関与している可能性がある。

HCC の臨床検体で定量的 RT-PCR を用いて SIAH1 遺伝子の発現を調べると発現の低下している症例が多かった。また4つの肝癌細胞株（HepG2, SNU449, SNU475, Huh7）においても SIAH1 遺伝子の発現は低下していた。このことから SIAH1 遺伝子の発現低下は HCC の発癌メカニズムにおいて重要であると思われる。

よって SIAH1 遺伝子の発現が低い肝癌細胞株に SIAH1 遺伝子を過剰発現させた時、Wnt 系や細胞増殖能に及ぼす影響を調べた。方法は3つの異なる遺伝子異常の背景を持つ肝癌細胞株（HepG2: β -catenin の突然変異, SNU475: AXIN1 の突然変異, Huh7: β -catenin と AXIN1 に変異無し）にアデノウイルスを媒体として SIAH1 遺伝子を導入して検討した。

SIAH1 遺伝子を導入すると HepG2 や SNU475 において細胞内に異常蓄積した β -catenin が減少し、また細胞増殖の抑制とアポトーシスの誘導がみられた。しかしながら β -catenin の異常蓄積を伴わない Huh7 においてもアポトーシスの誘導がみられた。

SIAH1 は β -catenin 以外にも他の蛋白と作用することが知られており、その蛋白の一つである PEG10 は HCC において過剰発現しており、細胞増殖を促進させることが報告されている。また Huh7 は PEG10 の発現が高いことも知られている。よって Huh7 に SIAH1 遺伝子を導入すると、PEG10 の発現量は著しく抑制した。

肝癌細胞株において SIAH1 遺伝子の導入はアポトーシスを誘導し細胞増殖を抑制することが示された。Wnt 系に変異のある細胞では β -catenin の分解により Wnt 系が抑制され、細胞増殖抑制がおこっていることが考えられる。また Wnt 系に変異のない細胞でも細胞増殖抑制がおこるため、Wnt 系を介さない作用も考えられるが、その一つとして SIAH1 が細胞増殖を促進する PEG10 などの他の標的蛋白を分解している可能性が考えられる。以上のようにさまざまな機序で肝癌細胞株に細胞増殖の抑制やアポトーシスを誘導する SIAH1 遺伝子は HCC における key molecule の一つであり、そのメカニズムを明らかにすることは肝癌の新たな治療戦略を考えるうえで重要である。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

肝細胞癌（HCC）の包括的 LOH 解析から癌抑制遺伝子の候補としてユビキチン化により蛋白分解を行う SIAH1

(Seven in absentia homolog 1) 遺伝子が同定された。SIAH1 遺伝子の発現は HCC や肝癌細胞株で低下し、発現低下と LOH の頻度は相関していたが Mutation や Methylation の関与は認めなかった。しかしながら、HCC で高頻度に発現が低下し、その低下が HCC の進行度と関連するので、HCC の発癌・進行過程において SIAH1 遺伝子関与のメカニズムを解明することは重要であると考えられた。

よって SIAH1 が肝癌細胞株の細胞増殖やアポトーシスに与える影響を、アデノウイルスを用いて SIAH1 を過剰発現することにより検討したところ、SIAH1 の発現は細胞増殖の抑制とアポトーシスをともに誘導した。次に SIAH1 の標的蛋白群の中で、大腸癌や HCC で癌化と関連のある Wnt signal 伝達系で中心的蛋白である β -カテニンと、肝癌に高発現して細胞増殖促進作用を持つことが示されている PEG10 に注目し、SIAH1 のこれらの蛋白に及ぼす影響が解析された。その結果、SIAH1 の遺伝子導入により、 β -カテニンの分解が促進し、細胞内局在が変化し Wnt signal 伝達系が抑制されることが示された。さらに SIAH1 は PEG10 を分解していることが示された。

以上の研究は肝細胞癌の発癌・進行過程に、SIAH1 遺伝子の発現低下が複数の標的蛋白を介して関与する可能性を示唆し、今後の肝細胞癌の治療法の開発など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19年2月7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。