

氏 名	いわ 岩 井 あき 晃 お 男
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2810 号
学位授与の日付	平 成 17 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 内 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Siah-1L, a novel transcript variant belonging to the human Siah family of proteins, regulates β -catenin activity in a p53-dependent manner (新規のヒト Siah ファミリー蛋白である Siah-1L は, p53 依存的に β カテニン活性を調節する)
論文調査委員	(主 査) 教 授 武 藤 誠 教 授 野 田 亮 教 授 永 田 和 宏

論 文 内 容 の 要 旨

細胞内において β カテニンの分解は厳密に制御されており, その制御機構の破綻による β カテニン異常集積は発癌や癌の進展に重要であると考えられている。これまでに制御機構として大きく2つの経路が報告されている。1つは APC・AXIN・GSK3 β が β カテニンと複合体を形成して β カテニンをリン酸化することで分解するリン酸化依存的経路。もう1つは APC を足場として Siah-1・SIP・Ebi が β カテニンと複合体を形成することで分解するリン酸化非依存的な経路である。多くのヒト癌において高頻度に β カテニンの異常集積が報告されているが, 肝臓癌・胃癌などではその半数以上でリン酸化依存的経路の異常が認められない。また肝臓癌などにおいては, p53 変異と野生型 β カテニンの異常集積との相関が報告されている。しかしこれらの異常集積メカニズムはいまだ不明である。この研究では細胞内 β カテニンを制御する p53 誘導性の新しい Siah ファミリー蛋白, Siah-1L を同定しヒト癌細胞における Siah-1L による新しい β カテニン制御機構の解明を目的とした。

培養細胞 MCF7 に抗ガン剤処理にて p53 を誘導させ抽出した mRNA より RT-PCR を用いてサブクローニングを行ったところ, 以前に報告されていた Siah-1 よりも 5'端が48塩基長い Siah-1 の新しいバリエーションを同定し, これを Siah-1L と名付けた。

はじめに Siah-1L の p53 による誘導性を Siah-1L 特異的な Primer での RT-PCR や Immunoblotting を用いて検討した。p53 野生型の細胞株に抗ガン剤処理や UV 照射にて内在性の p53 を活性化させたところ, p53 の発現に一致して Siah-1L が誘導され, Siah-1 の誘導は認められなかった。また p53 を欠失した細胞株に p53 を外来性に過剰発現させると Siah-1L が誘導され, Siah-1 は誘導されなかった。しかし転写活性化能のない変異型 p53 の過剰発現では, Siah-1L は誘導されなかった。

次に, p53 依存性の β カテニン分解における Siah-1L の重要性を検討するために, Siah-1L 特異的な siRNA を設計して内在性の Siah-1L を抑制したところ, p53 による β カテニンの分解がほぼ抑制された。

またリン酸化非依存的な経路への効果を検討するために, GSK3 β によるリン酸化に抵抗性を示す変異型 β カテニンと Siah-1L を共発現させたところ, 野生型の β カテニンと同様に変異型 β カテニンの分解も認められた。しかし, Siah-1L との複合体形成に必須な部位であると考えられる β カテニンの 25-140 アミノ酸を欠損させた変異体では分解が認められなかった。

更に β カテニンの分解によりアポトーシスが誘導される可能性が報告されているため, Siah-1L とアポトーシスの関連を検討した。結果として Siah-1L を過剰発現させた細胞では, コントロールと比べて抗ガン剤によるアポトーシス誘導能が増強された。

以上のことから新しい Siah ファミリー蛋白, Siah-1L は Siah-1 とは異なり p53 により誘導され β カテニンの分解経路

を制御していることを明らかにした。また様々なヒト癌に広く見られるリン酸化依存的な経路に変異を認めない β カテニンの異常集積には、p53変異によるSiah-1L誘導の阻害が重要な役割を果たしていると考えられた。さらにSiah-1Lは様々な癌で見られる変異型 β カテニンをも分解し、抗ガン剤によるアポトーシス誘導能を増強することから、遺伝子治療の分子標的としての可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

発癌に重要な役割を果たすと考えられている β カテニンの異常集積には、Wnt経路による調節機構の異常だけでは説明できないものが数多く存在しp53変異との関連性が示唆されているが、いまだその原因は不明である。本研究において申請者らは新しいSiahファミリー蛋白を同定し、ヒト癌における β カテニン制御機構と発癌への寄与に関して検討した。

新しく同定したSiahファミリー蛋白は、Siah-1と異なりp53誘導性であることを明らかにし、これをSiah-1Lと名付けた。

Siah-1Lをノックダウンした細胞ではp53による β カテニンの分解がほぼ抑制されたことから、p53による β カテニン制御においてSiah-1Lが重要な役割を果たしていることを明らかにした。このことから様々なヒト癌に見られるWnt経路に異常を認めない β カテニンの異常集積には、p53変異によるSiah-1L誘導の阻害が重要であると考えられた。

またSiah-1Lは癌でよく見られるWnt経路の制御に抵抗性で異常集積を起こす変異型 β カテニンも分解することを示した。更にSiah-1Lは抗ガン剤によるアポトーシス誘導能を増強することも明らかにした。これらのことからSiah-1Lが癌の遺伝子治療の標的となる可能性が示唆された。

以上の研究はヒト癌における新たな β カテニンの制御機構の解明に貢献し、癌に対する新たな遺伝子治療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のあるものと認める。なお、本学位授与申請者は、平成17年1月5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。