

氏 名	Khokon Kumar Dutta ココン クマール ダッタ
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 3045 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 病 理 系 専 攻
学位論文題目	Two distinct mechanisms for loss of thioredoxin-binding protein-2 in oxidative stress-induced renal carcinogenesis (酸化ストレス誘発腎発がんにおける TBP-2 蛋白消失の 2 つの異なるメカニ ズムについて)
論文調査委員	(主 査) 教 授 野 田 亮 教 授 小 川 修 教 授 松 田 道 行

論 文 内 容 の 要 旨

酸化ストレスは発がんとは密接に関連している。鉄は人体において最も多く含まれる遷移金属であり、過剰の鉄が、活性酸素発生の触媒として、発がんのリスクとなることが疫学的に知られているが、その詳細なメカニズムはまだ明らかではない。鉄キレートである鉄ニトリロ三酢酸 (Fe-NTA) をラットの腹腔内に投与すると腎臓の近位尿細管の内腔でフェントン反応を起こし、その繰り返しの結果、高率に腎細胞がんが発生する。これまで、このモデルの腎臓で過酸化脂質や酸化的 DNA 損傷が起こることが示され、また発がんの標的遺伝子のひとつとして p16 癌抑制遺伝子が同定された。酸化ストレスに対する生体防御機構として、レドックス制御が存在するが、本報告においては、生体内の主たる還元分子であるチオレドキシンと拮抗する thioredoxin-binding protein-2 (TBP2) の意義について詳細に検討した。特異抗体を使用して生体内分布を検討すると、腎臓のみに蛋白量が多いことが判明した。免疫組織学的に詳細に検討すると、正常の近位尿細管において主として核とミトコンドリアに存在し、しかもミトコンドリアではチトクローム C と結合していることが判明した。TBP-2 蛋白は Fe-NTA 投与に伴う急性の尿細管傷害ならびに完成した腎細胞がんでは顕著に減少した。しかしながら、その mRNA 量は対照的であり、急性期では十分検出されたのに対し、がんでは mRNA をほとんど認めなかった。これは、急性期ではミトコンドリア障害などの要因で蛋白の半減期が短くなっているためと考えられた。また、発がんの中途に認められる異型細胞においても TBP 蛋白は認められなかった。そこで、TBP2 と細胞増殖との関係を見るために、proliferating cell nuclear antigen (PCNA) との関係免疫染色で検討すると、逆相関の関係を認めた。がんにおける TBP-2 の mRNA 消失に関しては、ゲノムの塩基配列の解析とそのプロモーター領域のメチル化の解析を行った。検討したところ、TBP-2 には CpG island が存在した。メチル化特異的 PCR で検討することにより、腫瘍においては CpG island のメチル化により TBP-2 遺伝子が不活性化されていることが判明した。TBP-2 遺伝子の変異に関しては、G から T, G から A への点突然変異あるいは PolyA 部位の塩基付加を主に認めた。これらの結果から、TBP-2 が細胞増殖と逆相関の関係があり、そのプロモーター領域のメチル化により腫瘍で不活性化されていることが明らかとなった。これまで、TBP-2 の発現はユビキタスであるとされてきたが、今回抗体を使用した蛋白レベルの解析により、腎臓で蛋白量が多いことが初めて明らかになった。これには以下の意義があると考えられる。1) TBP-2 は vitamin D3 up-regulated protein (VDUP-1) としても報告され、ビタミン D で誘導されることが知られていたが、腎尿細管細胞のミトコンドリアはビタミン D の活性化を行う場所であることは興味深い。2) TBP-2 はチオレドキシンと結合し拮抗する蛋白である。TBP-2 が枯渇することにより、チオレドキシンの作用がさらに強調されると考えられる。3) 腎臓ではミトコンドリアが TBP-2 の貯蔵庫としての役割を兼ね備えている可能性がある。軽度のミトコンドリア障害では TBP-2 がミトコンドリアから漏れだし核へ移行し細胞分裂を抑制するのに対し、高度のミトコンドリア障害では、TBP-2 が消失し細胞分裂へモードが移行するという仮説が成り立つ。本研究の結論として、TBP-2 は酸化ストレス誘発腎発がんモデルにおいて重要な標的分子のひとつであると考えられた。

論文審査の結果の要旨

鉄ニトリロ三酢酸をラット腹腔内に反復投与すると腎臓の近位尿細管で酸化ストレスを起こし、腎細胞がんを発生する。生体内の主な還元分子であるチオレドキシンと拮抗する thioredoxin-binding protein-2 (TBP-2) の意義について検討した。生体内分布を検討すると、腎臓に蛋白量が多いことが判明した。正常近位尿細管において主として核とミトコンドリアに存在し、ミトコンドリアではチトクローム C と結合していた。TBP-2 蛋白は Fe-NTA 投与に伴う急性の尿細管傷害及び腎細胞がんで顕著に減少した。しかし、その mRNA 量は対照的であり、急性期では十分量検出されたのに対し、がんでは mRNA をほとんど認めなかった。発がんの中途に認められる異型細胞においても TBP-2 蛋白は消失した。TBP-2 と細胞増殖との関係を見るため、proliferating cell nuclear antigen (PCNA) との関係を検討すると、逆相関の関係を認めた。がんにおける TBP-2 の mRNA 消失に関して、そのプロモーター領域のメチル化解析を行った。腫瘍においては CpG island のメチル化により TBP-2 遺伝子が不活性化されていた。TBP-2 は酸化ストレス誘発腎発がんモデルにおいて重要な標的分子のひとつであると考えられた。

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19年1月15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。