

氏 名	さくら い とし はる 櫻 井 俊 治
学位の種類	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2762 号
学位授与の日付	平 成 16 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	A cleaved form of MAGE-A4 binds to Miz-1 and induces apoptosis in human cells. (MAGE-A4のC端の断片がMiz-1と結合し、ヒトの細胞においてアポトーシスを誘導する)
論文調査委員	(主 査) 教 授 鍋 島 陽 一 教 授 米 原 伸 教 授 千 葉 勉

論 文 内 容 の 要 旨

肝癌蛋白であるガンキリンは肝癌で高発現しており癌治療の有望な標的である。melanoma antigen (MAGE) family は癌特異的に発現を認める蛋白でその生理的機能はほとんどわかっていない。ガンキリンはMAGE-A4と結合することから、MAGE-A4の変異体をつくり細胞増殖への影響を検討した。MAGE-A4のC端107アミノ酸部分 (MAGE-A4ΔN1) がp53依存性および非依存性にアポトーシスを誘導した。MAGE-A4ΔN1がp53の蛋白量を増加させたが、p21のmRNA, 蛋白とともに減少させた。またBxl-xLの発現量を低下させ、ミトコンドリアの膜の機能を低下させた。

次に酵母 two-hybrid スクリーニングにより MAGE-A4ΔN1 に結合する蛋白として Miz-1 (Myc-interacting protein 1) を同定し、MAGE-A4ΔN1 は Miz-1 と共に p21 プロモーター領域に移行して p21 の転写を抑制することを解明した。

293T 細胞, U-2 OS 細胞において、全長の MAGE-A4 が切断されて C 端 104 アミノ酸の断片が生成され、この断片は MAGE-A4ΔN1 と同様にアポトーシス誘導能をもっていた。この切断はカスパーゼ阻害剤 (Z-VAD-fmk) にて阻害されたが、アスパラギン酸の変異にては抑制されず、カスパーゼが MAGE-A4 の切断に間接的に関わっている可能性が示唆された。また MAGE-A4 の切断はアドリマイシンにより増強された。

MAGE-A4ΔN1 は HIV の Taf 蛋白との融合蛋白により in vitro, in vivo において肝癌蛋白ガンキリンによる造腫瘍効果を抑制した。

これらのことより、MAGE-A4 の C 端断片は Miz-1 と結合することでアポトーシスを誘導し、この断片の癌治療への応用の可能性が示唆された。更に DNA 障害ストレスにより全長の MAGE-A4 からアポトーシス誘導能をもつ C 端断片を生成することより、MAGE-A4 の新たな機能解明の可能性が示された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

Melanoma antigen (MAGE) family は癌特異的に発現を認める蛋白でその生理的機能はほとんどわかっていない。酵母を用いた遺伝子スクリーニングにより、MAGE family のひとつである MAGE-A4 が肝癌蛋白ガンキリンと特異的に結合することが明らかとなった。そこで申請者は MAGE-A4 によるガンキリン造腫瘍性抑制のメカニズムを検討した。その結果、MAGE-A4 の C 端 107 アミノ酸部分が p53 依存性および非依存性にアポトーシスを誘導することがわかった。この MAGE-A4 の C 端断片は Miz-1 (Myc-interacting protein 1) と結合し、p21 プロモーター領域に移行して p21 の転写を抑制した。ヒト細胞内で MAGE-A4 が切断されてアポトーシス誘導能をもつ C 端断片が生成され、この切断はアドリマイシンにより増強されたことから、DNA 障害ストレスにより MAGE-A4 からアポトーシス誘導能をもつ C 端断片が生成されることが判明した。更に、MAGE-A4 の C 端断片の合成蛋白質を導入することにより、in vitro, in vivo においてガンキリンによる造腫瘍効果が抑制されたことから、MAGE-A4 の癌治療への応用の可能性が示唆された。

以上の研究は癌に特異的に発現する MAGE-A4 の機能の解明に貢献し、新たな癌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あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成16年3月1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。