

京都大学	博士（医学）	氏 名	後 藤 容 子
論文題目	UCHL1 provides diagnostic and antimetastatic strategies due to its deubiquitinating effect on HIF-1 α (UCHL1はHIF-1 α の脱ユビキチン化を介してがんの遠隔転移を亢進する)		
(論文内容の要旨)			
遠隔転移はがん患者の主要な死因の一つであり、精力的ながん研究を通して克服すべき課題である。これまでの基礎研究および臨床研究から、低酸素誘導性因子 1 (hypoxia-inducible factor 1: HIF-1)ががんの遠隔転移の成立に於いて重要な役割を果たすことが指摘されている。しかし、HIF-1 を活性化してがんの遠隔転移を亢進する遺伝子は同定されておらず、有効な治療法を確立する上で大きな障害となっている。本研究では、HIF-1 活性化因子を網羅的にスクリーニングする遺伝学的手法を確立し、Ubiquitin C-terminal hydrolase-L1 (UCHL1)を同定した。そして、UCHL1 が HIF-1 を活性化することによって、がん細胞の遠隔転移能が亢進することを見出し、新たな診断・治療法の確立に向けた道を拓いた。 HIF-1はαサブユニット (HIF-1α)とβサブユニット (HIF-1β)で構成されるヘテロ 2 量体の転写因子で、その低酸素刺激依存的な活性は主に HIF-1αの安定性制御に依存している。すなわち、HIF-1αは酸素存在下で VHL によるユビキチン化を受けて積極的に分解され、逆に低酸素環境下では安定化して転写因子として機能することが知られている。本研究で実施した免疫沈降実験によって、新規 HIF-1 活性化因子としてスクリーニングした UCHL1 が、HIF-1αタンパク質と直接的に結合し、HIF-1αタンパク質の脱ユビキチン化を促進することが明らかになった。さらに、ヒト子宮頸がん由来細胞株やヒト乳がん由来細胞株などを用いた細胞生物学的解析を通して、UCHL1 が HIF-1αタンパク質を安定化し、その結果として HIF-1 活性を亢進することを確認した。これらの研究により、UCHL1 が HIF-1 を活性化する機序が明らかになった。 次に、UCHL1 による HIF-1 の活性化が持つ病態生理学的な意味を明らかにするために以下の研究を実施した。まず、UCHL1-HIF-1 経路の活性化によって MMP2 や MMP9 をはじめとする転移関連遺伝子の発現が誘導されることを定量的 RT-PCR で見出した。次に UCHL1-HIF-1 経路の活性化が実際にがんの遠隔転移を亢進するかどうかを検証する目的で、マウス肺転移モデルによるインビボ実験を実施した。その結果、UCHL1 を過剰発現したがん細胞をマウス尾静脈から移植した場合に、肺に形成される転移コロニー数が有意に増加することを確認した。また、UCHL1 による転移の亢			

進が、HIF-1 α 遺伝子のノックダウンや HIF-1 阻害剤で著明に抑制されることが明らかになり、確かに UCHL1 が HIF-1 依存的にがんの遠隔転移を亢進することが示された。さらに、UCHL1 遺伝子のノックダウンや UCHL1 阻害剤を用いて UCHL1-HIF-1 経路を阻害した場合に、がんの転移形成能が有意に抑制されることを確認し、UCHL1 を治療標的とする意義を確認した。

最後に、UCHL1-HIF-1 経路ががん患者の生命予後に影響するか否かを検証する目的で、ヒト乳がんおよびヒト肺がんの検体を対象にした臨床研究を実施した。抗 UCHL1 抗体と抗 HIF-1 α 抗体による免疫組織化学染色の結果、腫瘍内の UCHL1 発現量が HIF-1 α 発現量と相関し、UCHL1 の腫瘍内発現量の高い患者群は術後生存期間が有意に短いことが明らかになった。

以上の結果は、UCHL1 が HIF-1 α の脱ユビキチン化を介して HIF-1 を活性化し、がんの遠隔転移を亢進させる機能を持つことを示している。また、UCHL1-HIF-1 経路が、実験小動物のみならずヒトのがん遠隔転移に於いても確かに機能していることを示唆している。本研究は、がんの遠隔転移を抑制する為の新規標的分子、および予後予測マーカーとして UCHL1 を活用し得ることを意味しており、臨床的な視点から見てもたいへん意義深いものである。

(論文審査の結果の要旨)

遠隔転移はがん患者の主要な死因の一つであり克服すべき課題である。これまでの研究から、低酸素誘導性因子 1 (hypoxia-inducible factor 1: HIF-1)ががんの遠隔転移成立に於いて重要な役割を果たすことが指摘されてきた。しかし、HIF-1 を活性化してがんの遠隔転移を亢進する遺伝子は同定されておらず、有効な治療法を確立する上で大きな障害となっていた。本研究では、HIF-1 活性化因子を網羅的にスクリーニングする遺伝学的手法を通して Ubiquitin C-terminal hydrolase-L1 (UCHL1)を HIF-1 活性化因子として同定し、その HIF-1 活性化メカニズムを解明した。

HIF-1は α サブユニット (HIF-1 α)と β サブユニット (HIF-1 β)で構成されるヘテロ 2 量体の転写因子で、その低酸素刺激依存的な活性は主に HIF-1 α の安定性制御に依存している。UCHL1 が HIF-1 を活性化するメカニズムとして、UCHL1 が HIF-1 α タンパク質と結合し、HIF-1 α タンパク質の脱ユビキチン化を促進し、HIF-1 α タンパク質を安定化、その結果として HIF-1 活性を亢進することが示唆された。次に、マウス肺転移モデルによるインビボ実験により、UCHL1 が HIF-1 依存的にがんの遠隔転移を亢進することが示された。最後に、ヒト乳がんおよびヒト肺がんの臨床検体を用いた免疫組織化学染色実験により、腫瘍内の UCHL1 発現量が HIF-1 α 発現量と相関し、UCHL1 の腫瘍内発現量の高い患者群は術後生存期間が有意に短いことが明らかになった。

以上の研究は、UCHL1 が HIF-1 を活性化するメカニズムについて明らかにすると共に、がんの遠隔転移形成促進経路の解明に貢献し、今後の新たながん遠隔転移の診断および治療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 27 年 2 月 16 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。