

氏名	蔡 孟詞		
学位の種類	博士（医学）		
学位記番号	博甲第	8413	号
学位授与年月	平成	29年	12月 31日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	Regulation of HGF-induced hepatocyte proliferation by the small GTPase Arf6 through the PIP <sub>2</sub> -producing enzyme PIP5K1A (低分子量 G 蛋白質 Arf6 による PIP <sub>2</sub> 合成酵素 PIP5K1A を介した HGF 依存肝細胞増殖の制御)		
主査	筑波大学教授	博士（理学）	入江 賢児
副査	筑波大学教授	博士（医学）	佐藤 豊実
副査	筑波大学講師	博士（理学）	塩見 健輔
副査	筑波大学助教	博士（医学）	安孫子ユミ

## 論文の内容の要旨

蔡 孟詞氏の博士学位論文は、低分子量 G 蛋白質 Arf6 による PIP<sub>2</sub> 合成酵素 PIP5K1A を介した HGF 依存肝細胞増殖の制御機構を検討したものである。その要旨は以下の通りである。

### (目的)

肝細胞増殖因子 (Hepatocyte growth factor; HGF) とその受容体 c-Met は肝細胞の増殖を制御する。これまでの研究で、低分子量 G 蛋白質 ADP-ribosylation factor (Arf6) がマウス肝細胞において、HGF からのシグナル伝達に重要な役割を果たすことが知られている。Arf6 ノックアウト (Arf6 KO) マウスは胎性致死であり、肝臓の発生が異常になること、Arf6 KO マウスでは HGF 依存的な肝細胞素の形成が異常になることがこれまでにわかっていた。しかしながら、Arf6 がどのような機構で HGF からのシグナル伝達に機能するのか、その分子機構は不明であった。本研究で著者は、Arf6 が HGF 依存肝細胞増殖を制御する機構について検討した。

### (対象と方法)

著者は、HepG2 細胞を用いて、Arf6 による HGF 依存的シグナル伝達機構の調節メカニズムと細胞機能について、ノックダウンした細胞を用いて検討した。Arf6 のエフェクターとして知られている phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate (PIP<sub>2</sub>) 合成酵素 PIP5K1A についてもその効果をノックダウンした細胞を用いて検討した。HGF シグナル伝達経路として、肝細胞の増殖、PIP<sub>2</sub> と

phosphatidylinositol 3,4,5-triphosphate (PIP<sub>3</sub>) の産生、Akt の活性化を検討した。また、*PIP5K1A* KO マウスを用いて、部分肝切除による肝臓の再生の系における肝細胞の増殖、再生も検討した。

#### (結果)

著者は、HepG2 細胞において、HGF 刺激によって *Arf6* の活性化が更新することを見出した。次に、*Arf6* をノックダウンすると HGF 依存的な細胞増殖を抑えることを見出した。さらに、*Arf6* をノックダウンすると、PIP<sub>2</sub> と PIP<sub>3</sub> の産生、Akt の活性化も抑制されることを見出している。これらの知見から、著者は、HGF 刺激により、*Arf6* はそのエフェクタータンパク質である PIP<sub>2</sub> 産生酵素 PIP5K1 を活性化して PIP<sub>2</sub> を産生し、その結果、PIP<sub>2</sub> から PIP<sub>3</sub> が産生されることを想定し、PIP5K1 に焦点を当てて研究を進めた。その結果、HGF 刺激によって、3 種類の PIP5K1 アイソザイムのうち PIP5K1A が c-Met にリクルートされること、このリクルートが *Arf6* 依存的であることを見出した。*Arf6* をノックダウンした場合と同様に、PIP5K1A をノックダウンしても HGF 依存的な細胞増殖が抑えられることを観察している。さらに、PIP5K1A をノックダウンすると、*Arf6* をノックダウンした場合と同様に、PIP<sub>2</sub> と PIP<sub>3</sub> の産生が抑制されることを見出している。また、PIP5K1A をノックアウトした細胞では HGF 刺激による Akt の活性化も抑制されていた。*PIP5K1A* KO マウスでは、肝細胞の増殖、部分肝切除による肝臓の再生が抑制された。

#### (考察)

著者は、以上の結果から、*Arf6* が HGF 依存肝細胞増殖を制御する機構を提唱した。*Arf6* は HGF 刺激に依存して、PIP<sub>2</sub> 合成酵素 PIP5K1A を HGF 受容体である c-Met のところにリクルートし、そこで PIP5K1A を活性化する。活性化された PIP5K1A は PIP<sub>2</sub> を産生し、次いで産生される PIP<sub>3</sub> が Akt を活性化する。活性化した Akt は肝臓細胞の増殖を促進し、傷ついた肝臓の再生を促す。

### 審査の結果の要旨

#### (批評)

本研究では、*Arf6* が HGF 依存肝細胞増殖を制御する機構を解析し、その分子機構を明らかにした。*Arf6* は HGF 刺激に依存して、PIP<sub>2</sub> 合成酵素 PIP5K1A を HGF 受容体である c-Met にリクルートし、そこで PIP5K1A を活性化する。活性化された PIP5K1A は PIP<sub>2</sub> を産生し、次いで産生される PIP<sub>3</sub> が Akt を活性化する。活性化した Akt は肝臓細胞の増殖を促進し、傷ついた肝臓の再生を促す、という機構である。培養細胞とノックアウトマウスを用いた実験データは信頼度の高いものであり、このモデルで *Arf6* による HGF 依存肝細胞増殖を制御する機構が明らかにされた。これらの本研究成果は、肝細胞の増殖制御機構、肝臓の再生機構を明らかにする上で重要な知見であり、高く評価される。

平成 29 年 10 月 25 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。