

氏名(本籍)	か じろ まさ し 神 代 理 史 (茨 城 県)		
学位の種類	博 士 (学 術)		
学位記番号	博 甲 第 5028 号		
学位授与年月日	平成 21 年 3 月 25 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	生命環境科学研究科		
学位論文題目	The Ubiquitin Ligase CHIP Acts as an Upstream Regulator of Oncogenic Pathways (ユビキチンリガーゼ CHIP は癌の悪性を抑制する)		
主 査	筑波大学教授	博士(薬学)	柳 澤 純
副 査	筑波大学教授	農学博士	馬 場 忠
副 査	筑波大学准教授	博士(農学)	柏 原 真 一
副 査	筑波大学准教授	博士(薬学)	木 村 圭 志

論 文 の 内 容 の 要 旨

細胞内のタンパク質はその活性と量を厳密に調節されることによって複雑な生命現象を可能にしている。タンパク質の量は合成と分解によって制御されており、そのバランスが正常な生体反応には必須の条件である。ユビキチン-プロテアソーム系は選択的タンパク質分解を担う主要な分解系であり、時期空間特異的に特定のタンパク質の量を制御することで個体の発生分化から様々なストレスに対する細胞の応答性まで多くの段階に関与している。ユビキチン-プロテアソーム系は低分子タンパク質であるユビキチンがユビキチンリガーゼと呼ばれる酵素群により標的タンパク質に連続的に付加され、それがシグナルとなってプロテアソームによる認識、分解が起きることによって機能している。

ユビキチンリガーゼファミリーの一つである CHIP (carboxyl terminus of Hsc70-interacting protein) はヒートショックタンパク質 (Hsp proteins) と呼ばれる分子シャペロンをアダプターとして基質を認識し、ユビキチン化するユビキチンリガーゼとして知られている。これまでの報告から CHIP は多くの癌関連因子をユビキチン化の標的としていることから、癌との深い関連が示唆されている。しかしながら、実際の癌の発症や進行に CHIP がどのように機能しているは明らかになっていない。そこで本研究では CHIP が実際の癌組織や癌細胞の性質にどのような影響を与えるかについて詳細な解析を行うことを目的とした。研究の結果、ヒト乳癌組織において悪性化が進行した癌組織ほど CHIP の mRNA 量が減少していることが明らかとなった。さらに抗 CHIP 抗体を用いた免疫染色の結果からタンパク質レベルでも CHIP の現象が認められた。この悪性化した乳癌組織における CHIP の減少が乳癌の悪性化に寄与しているかを調べるため、ヒト乳癌由来細胞株における CHIP の発現量を RNA 干渉法を用いて抑制し、悪性度の変化を検討した。その結果、ヌードマウスを用いた腫瘍形成実験により CHIP の減少は腫瘍形成を促進することを見いだした。また CHIP を過剰発現が腫瘍の形成を抑制することも明らかとなった。これらの実験結果から、CHIP は乳癌において癌の悪性化を抑制している因子として機能していることが示唆された。さらに細胞レベルでの形質の変化を解析した結果、CHIP の発現低下は癌細胞の足場非依存的な増殖と浸潤能を促進することで癌の悪性化に繋がることがわかった。また分子レベルでは CHIP の発現が抑制されることで抗アポトーシスに働く因子である

Bcl2, Akt や、転移促進因子である Smad2, Twist の転写が促進されていることを見出した。その中で CHIP のユビキチン化標的因子として新規に AIB1 (Amplified In Breast cancer 1) を同定した。AIB1 は乳癌の増悪因子として知られており、転写共役因子として多数の転写因子の転写活性化に寄与していることが報告されている。さらに研究を進めた結果、CHIP の発現低下は AIB1 タンパク質の蓄積を誘導し、その下流の因子である Smad2, Twist の発現を促進していることが明らかとなった。また RNA 干渉法を用いた AIB1 の発現抑制は CHIP の発現低下による癌の浸潤能の亢進を抑制することから CHIP/AIB1 のシグナルが CHIP による癌の浸潤能を制御していることが示唆された。さらに生体においても CHIP/AIB1 の経路が機能しているのかを検討するため、ヌードマウスを用いた転移実験を行った。その結果、CHIP の発現を抑制した乳癌細胞では肺転移が促進され、AIB1 の発現を抑制することでその転移促進が見られなくなることも明らかとなった。また CHIP の過剰発現が転移を抑制することも確認された。以上のことから CHIP/AIB1 経路は生体内においても乳癌の転移能を制御する重要な経路であることが明らかになった。一方で AIB1 の発現抑制は CHIP の発現抑制で見られた足場非依存的な増殖能についてはほとんど影響しなかった。このことから、CHIP には AIB1 以外の標的因子が存在し、その経路が足場非依存的細胞増殖を制御していることも示唆された。以上の研究結果から CHIP は AIB1 を始めとする癌関連因子をユビキチン化することによって足場非依存的な増殖能や転移能を抑制し、腫瘍の形成や転移を抑制する強力な癌抑制因子であることを明らかにした。

審 査 の 結 果 の 要 旨

癌は日本人の主要な死亡原因の一つであり、その治療に向けた研究は日本のみならず世界中で盛んに行われている。その結果、これまでに様々な抗癌薬や診断法が開発され、治療に用いられている。にもかかわらず未だ癌の発症、悪性化メカニズムの全貌解明には至っておらず、有効な治療法のない種類の癌が存在している。以上のことから癌の発症や悪性化に関与する新規因子の同定ならびにそのメカニズムの解明は今後の癌治療戦略を進めていく上で重要な研究課題となっていくことが予想される。

この研究はユビキチンリガーゼの一つである CHIP の癌悪性化に与える影響について注目し、その機構の解明を目指して行われている。CHIP がこれまでに多くの癌関連因子と相互作用する点に注目し、乳癌組織において CHIP 発現量が減少していることを見出した。また CHIP タンパク質の減少が細胞レベルでの乳癌の悪性化に寄与し、動物実験の結果から生体内においても CHIP が重要な癌悪性化抑制因子として機能していることも明らかとした。さらに CHIP による癌の悪性化抑制の分子メカニズムの解明も進め、CHIP の新規のユビキチン化調的因子として AIB1 を同定することにも成功し、その分子ネットワークの解明に至っている。この研究は臨床、動物、細胞、分子レベルでの多面的な研究アプローチにより、癌の悪性化を抑制する新規のネットワークの存在を発見することに成功している。以上のことからこの研究成果は今後の癌研究において新しい知見をもたらす、その進展に大きく貢献することが期待される。

よって、著者は博士（学術）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。