

課題番号 13

## がん蛋白質ガンキリンによる肝がん発生と血管新生との関連に関する研究

### [1] 組織

代表者：藤田 潤  
(京都大学大学院医学研究科)

対応者：福本 学  
(東北大学加齢医学研究所)

分担者：  
東辻 宏明  
(京都大学大学院医学研究科)

研究費：物件費15万9千円，旅費4万1千円

### [2] 研究経過

我々がヒト肝細胞がんから発見したガンキリンは、アンキリンリピート構造を持つがん蛋白質であり、Rb、Cdk4、プロテアソームのサブユニット S6b、MAGE-A4、MDM2、NF- $\kappa$ B 等に結合する。がん抑制蛋白質 Rb 及び p53 のユビキチン化、プロテアソームによる分解を促進することにより、がん化を促進すると考えられ、肝細胞がんや食道がん他で発現が亢進している。また、その発現抑制によりがん細胞の増殖が抑制されることから、良いがん治療の標的となる可能性がある。最近国内外の他グループにより、ガンキリンが 26S プロテアソームのアセンブリーに必要なシャペロンであること、がん抑制蛋白質 C/EBP $\alpha$  の分解も促進して肝がん発生に特に重要であること等も報告されている。

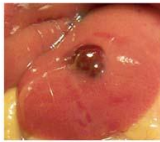
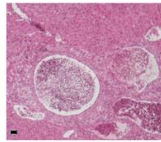
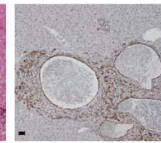
これまでに本研究代表者等は、東北大の対応者と共同で、肝細胞特異的にガンキリンを高発現するトランスジェニックマウスを作成した。不思議なことに肝細胞がんではなく血管(肉)腫の発生を認めた(図)。ヒトの肝血管肉腫はトロトラストに曝露された後にできやすいことが知られており、その発生機序の解明は重要である。本共同研究では、マウス肝細胞でガンキリンを発現亢進させたときに肝血管腫が発生した機序を明らかにすることを目的とした。

以下、研究活動状況の概要を記す。まずガンキリンにより血管新生が促進されることを、肝化学発がんモデル、肝細胞がん株皮下移植モデルにより検討し、組織を東北大学で免疫染色して解析した。ガンキリンの機能に関する分子生物学的な解析は京大で行った。毎月電子メールで意見交換し、研究のまと

めと打ち合わせを京都で2回、仙台で1回行った。

A	Group	Tumor
	control	0 / 7
	HBX $\rho$ -Gankyrin transgenic	5 / 7

B	Gross	H&E	CD34
			

### 図 肝細胞でのガンキリン高発現による肝血管肉腫の発生

A) ガンキリン群で肝血管肉腫発生が有意に増加。B) 腫瘍細胞での血管内皮マーカー(CD34)の発現。

### [3] 成果

#### (3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

まず第1に、ガンキリンのトランスジェニックマウスでは、DEN 化学発がん剤投与により、異常な血管内皮増殖が起こること。

第2に、ガンキリンを肝細胞がん細胞株で高発現させると、移植したヌードマウス皮下で血管新生が亢進すること。

第3に、ガンキリンを肝細胞がん細胞株で高発現させると、血管内皮増殖因子 VEGF の産生が増加すること。

第4に、ガンキリンが細胞内で Factor inhibiting HIF-1 (FIH-1) に結合する。この結果、FIH-1 による Hypoxia inducible factor -1 (HIF-1) の抑制が軽減され、VEGF の産生が促進されること。またこの効果は、3%酸素濃度では認められるが、20%や1%酸素濃度では認められないことを見いだした。

#### (3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究は、学外研究者との交流が飛躍的に活性化し、低酸素ストレス応答に関するさらなる共同研究へと発展した。また、本共同研究で明らかになったガンキリンによる HIF-1 活性化の成果は、アンキリンリピート蛋白質による虚血性疾患の治療という新しい研究領域の開拓に結びつき、今後の発展が期待されている。

[4] 成果資料

- (1) Liu Y, Higashitsuji H, Higashitsuji H, Itoh K, Sakurai T, Koike K, Hirota K, Fukumoto M, Fujita J, Overexpression of gankyrin in mouse hepatocytes induces hemangioma by suppressing factor inhibiting hypoxia-inducible factor-1 (FIH-1) and activating hypoxia-inducible factor-1, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (2013),  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2013.01.093>
- (2) Morf J, Rey G, Schneider K, Stratmann M, Fujita J, Naef F, Schibler U. Cold-inducible RNA-binding protein modulates circadian gene expression posttranscriptionally. *Science*. 2012 Oct 19;338(6105):379-83.
- ( 3 ) Masuda T, Itoh K, Higashitsuji H, Higashitsuji H, Nakazawa N, Sakurai T, Liu Y, Tokuchi H, Fujita T, Zhao Y, Nishiyama H, Tanaka T, Fukumoto M, Ikawa M, Okabe M, Fujita J. Cold-inducible RNA-binding protein (Cirp) interacts with Dyrk1b/Mirk and promotes proliferation of immature male germ cells in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2012 Jul 3;109(27):10885-90.