

課題番号 1

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25万9千円，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- κ 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その他で発現が亢進している。また、ガンキリン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 α 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、血管肉腫の発生を認めた。さらに、ガンキリンが FIH-1 に結合し、FIH-1 による Hypoxia inducible factor -1 (HIF-1) の抑制が軽減され、VEGF の産生が促進され血管新生に至ることを示した。ヒトの肝血管肉腫はトトロ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、ガンキリンを発現亢進させたときに血管新生が促進される機序とその臨床との関連を明らかにすることを目的として研究を行った。

以下、研究活動状況の概要を記す。まずガンキリンにより発生した血管肉腫の遺伝子発現、分泌型ガンキリンによる移植腫瘍での血管新生促進の解析の

ために、組織を東北大学で免疫染色した。ガンキリンの作用機序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3回、仙台で1回行った。



図 ガンキリン高発現肝がん細胞による血管新生の増加

ヌードマウス皮下にマウス肝がん細胞(左、親株;右、ガンキリン高発現株)を移植した時の腫瘍断面。

[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、ガンキリンが培養肝がん細胞で高発現すると、血管内皮増殖因子 VEGF の産生が増加し、臨床的にも、ヒト肝がん組織ではガンキリンの発現と VEGF の発現が相関することを見いだした。

第2に、ガンキリンを肝がん細胞株に高発現させ、遺伝子発現の変化をマイクロアレイで解析した結果、血管新生や細胞運動に関与する遺伝子の発現増加があきらかになった。

第3に、ガンキリンを肝がん細胞株の培養上清中に検出した。この肝がん細胞をヌードマウス皮下に腫瘍形成させたところ、検出できない株よりも顕著な血管新生の増加を認めた(図)。

第4に、低酸素でガンキリンの発現誘導を認めた。同様に低酸素で発現誘導される CIRP 蛋白質が、細胞外に分泌されて全身性炎症反応症候群(SIRS)の原因物質となることを見いだした。

(3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究により、学外研究者との交流がさらに活性化し、低酸素ストレス応答分子に関す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の細胞外分泌という現象は、がんの血清マーカーとなる可能性、新しい治療標的となる可能性があり、今後の発展が期待されている。

[4] 成果資料

- (1) Sakurai T, Kudo M, Watanabe T, Itoh K, Higashitsuji H, Arizumi T, Inoue T, Hagiwara S, Ueshima K, Nishida N, Fukumoto M, Fujita J. Hypothermia Protects against Fulminant Hepatitis in Mice by Reducing Reactive Oxygen Species Production. *Dig Dis*. 2013;31(5-6):440-6.
- (2) Qiang X, Yang WL, Wu R, Zhou M, Jacob A, Dong W, Kuncewitch M, Ji Y, Yang H, Wang H, Fujita J, Nicastro J, Coppa GF, Tracey KJ, Wang P. Cold-inducible RNA-binding protein (CIRP) triggers inflammatory responses in hemorrhagic shock and sepsis. *Nat Med*. 2013; 19(11):1489-95.
- (3) Lopez MA, Meier D, Mueller AF, Franken P, Fujita J, Fontana A. Tumor necrosis factor and transforming growth factor beta regulate clock genes by controlling the expression of the cold inducible RNA - binding protein (CIRBP). *J Biol Chem*. 2014;289(5):2736-44.