

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 24 万 1 千円，旅費 5 万 9 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、MDM2、NF- κ B 他に結合し、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。国内外のグループからは、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 の分解を促進す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マウス肝細胞特異的にガンキリンを高発現させ、血管肉腫の発生を認めた。これはガンキリンが FIH-1 に結合して低酸素誘導因子 HIF-1 の抑制を軽減し、VEGF の産生を促進するためであった。また、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。さらに低酸素環境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の原因物質となることを見いだした。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。ガンキリンはいろいろながんで発現が亢進しており、その発現抑制でがん細胞の増殖が抑制されることから、ガンキリンの研究と阻害剤の開発は、近年ますます重要性を増している。本共同研究では、ガンキリンが血管新生を促進する機序の解明と、その臨床的な意義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。ガンキリンにより発生した血管肉腫及びガンキリンを高発現させた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細胞分子生物学的な解析は京大で行った。随時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4回、仙台で1回行った。

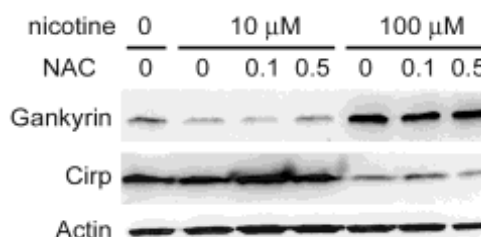


図 ニコチンによるガンキリンの発現誘導と Cirp 抑制

ヒトがん細胞株培養液中にニコチン、抗酸化剤 NAC を加え、ウェスタンブロットで発現を解析した。

[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、肝がん細胞株の培養上清中にガンキリンを検出し、濃縮して血管内皮細胞株の培養に添加した。しかし、細胞の増殖や *in vitro* 管腔形成、形態に対する影響は認められなかった。そこでリコンビナントのガンキリンを使用したが、同様の結果であった。

第2に、前回 Cirp をショック患者の血清中に認めたので、今回肝がん患者の血清中にガンキリンが認められるかどうか検討したところ、一部の患者で認めた。しかし、健康者の一部でも血清中に認めた。第3に、酸化ストレス同様、ニコチンでもガンキリンの誘導を認めたが、抗酸化剤での誘導抑制は見られなかった。(図)

(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飛躍的に活性化し、ニコチンによる創傷治癒促進プロジェクトに発展した。また、明らかになった細胞内蛋白質の細胞外での新たな機能という成果は、新しいバイオマーカー探索研究に結びつき、今後の発展が期待されている。

[4] 成果資料

(1) Sakurai T, Kashida H, Fujita J et al. Stress response protein cirp links inflammation and tumorigenesis in colitis-associated cancer. *Cancer Res.* 2014;74:6119-6128.

(2) Adachi T, Sakurai T, Fujita J et al. Involvement of heat shock protein a4/apg-2 in refractory inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2015 ;21:31-39.