

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	
Title(English)	Study on the role of Skp2 in hepatocyte growth factor induced inhibition of hepatoma cell proliferation
著者(和文)	リーシャオリエン
Author(English)	Xiaoran Li
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第9352号, 授与年月日:2013年11月30日, 学位の種別:課程博士, 審査員:駒田 雅之,岩崎 博史,太田 啓之,梶川 正樹,中戸川 仁
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第9352号, Conferred date:2013/11/30, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

論文審査の要旨及び審査員

(2000字程度)

報告番号	乙 第 号	学位申請者	李 曉然	
論文審査員	氏 名	職 名	氏 名	職 名
	主査 駒田 雅之	准教授	中戸川 仁	特任准教授
	岩崎 博史	教授		
	太田 啓之	教授		
	梶川 正樹	講師		

本論文は「Study on the role of Skp2 in hepatocyte growth factor-induced inhibition of hepatoma cell proliferation」と題し、四章から構成され、肝細胞増殖因子 (hepatocyte growth factor, HGF) が Skp2 (S phase kinase-associated protein) タンパク質の発現抑制を介して肝癌細胞の増殖を阻害する分子機構を明らかにした研究である。

第一章「Introduction」では、まず HGF が異なるタイプの細胞に対して増殖促進、増殖抑制、運動性亢進、管腔形成などの様々な細胞応答を引き起こすことを概説し、その中で細胞増殖を抑制するシグナル伝達機構についてこれまでの知見を述べている。引き続き、本論文で HGF による細胞増殖抑制における新たな機能が報告されるタンパク質 Skp2 について、これまでに知られている2つの細胞機能(ユビキチン化酵素である SCF 複合体の構成因子、および転写因子 c-Myc の活性化因子)を概説している。そして最後に、HGF による細胞増殖抑制のシグナル伝達機構に関して何が未解決であるか、明らかにすべき課題を説明し、HGF による細胞内シグナル伝達の研究領域における本研究の位置づけと意義を明確にしている。

第二章「Results」では、本研究から得られた実験結果を四つのパートに分けて述べている。HGF は MAP キナーゼの1種である ERK の活性化を介して転写抑制因子 Id1 の発現を抑制して転写因子 Ets を活性化し、Ets の標的遺伝子である細胞周期阻害因子 p16 の発現を誘導することで、ヒト肝癌細胞株 HepG2 などのいくつかの細胞株の増殖停止 (G1 期での細胞周期停止) を引き起こすことが明らかにされている。しかし、ERK の活性化がいかんにして Id1 の発現を抑制するのかが不明であった。本研究ではまず第一に、HepG2 細胞において HGF が Skp2 の発現を mRNA およびタンパク質レベルで抑制することを見出した。この抑制は ERK 経路の阻害剤によって解除されたことから、ERK の活性化を介するものであることが明らかとなった。そして、HGF による増殖抑制は細胞に Skp2 を過剰発現させることによって阻害されたことから、Skp2 の発現抑制は HGF による細胞増殖抑制に不可欠であることが明らかとなった。Skp2 は転写因子 c-Myc の転写活性を上昇させる機能をもつことから HGF 刺激した細胞における Myc 活性をレポーター遺伝子を用いて調べた結果、その転写活性が低下していることが明らかとなった。同様の Myc の活性抑制は、RNA 干渉により HGF 非依存的に Skp2 の発現を抑制することによっても引き起こされた。しかし、Skp2 による Myc 活性化に Skp2 のユビキチン化酵素としての機能に必要な F-box ドメインは必要でなく、Skp2 はユビキチン化非依存的に Myc を活性化することが示された。したがって、HGF が Skp2 の発現抑制を介してそのユビキチン化酵素活性に非依存的に c-Myc を不活性化することが明らかとなった。最後に、この c-Myc 不活性化がこれまでに明らかにされていた HGF による転写抑制因子 Id1 の遺伝子発現の抑制の原因であるかどうかを検討するために RNA 干渉による Skp2 や Myc の発現阻害が Id1 の発現抑制に及ぼす影響を調べた結果、Skp2 と Myc いずれの発現阻害も Id1 の発現を抑制した。以上の結果から、HepG2 細胞において HGF 刺激による ERK の活性化が Skp2 の発現抑制を介して c-Myc の不活性化を引き起こすことにより Id1 の発現を抑制する、というメカニズムが解明された。

第三章「Discussion」では、本研究の結果をふまえて、HGF が細胞周期を停止してその増殖を阻害するシグナル伝達機構に関して新たに明らかにされた上記のメカニズムについて考察し、本研究を総括している。また、今後解明されるべき残された問題点、すなわち ERK 活性化がいかんにして Skp2 の発現を抑制するのか、また Skp2 はいかにして c-Myc を活性化するのか、といった課題についても議論している。そして最後に、Skp2 が癌原遺伝子である c-Myc の活性化因子であることから、Skp2 を分子標的とした抗癌剤開発への応用展開の可能性について議論している。

第四章「Material and methods」では、本研究で行った実験に用いた材料と解析手法の詳細を記し、第三者が追試実験を行うことを可能にしている。

以上、本論文は HGF が ERK の活性化依存的に Skp2 の発現を抑制して c-Myc の転写因子活性を低下させることが Id1 の発現抑制を介して細胞増殖を停止させることを明らかにしたものであり、細胞増殖因子のシグナル伝達機構に関して新たな知見を与えたものである。したがって本論文は博士(理学)の学位論文として十分な価値があるものと認められる。