

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 原 武史

---

本論文は、発癌機構を脂質によって活性化されるプロテインキナーゼ C (PKC) の機能と関連づけて論じている。PKC は 10 種の分子種からなり、その分子構造と活性化機構から、 $\text{Ca}^{2+}$  とジアシルグリセロール (DG) によって活性化される cPKC ( $\alpha$ ,  $\beta$  I,  $\beta$  II,  $\gamma$ )、 $\text{Ca}^{2+}$  に依存しない nPKC ( $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\eta$ ,  $\theta$ )、 $\text{Ca}^{2+}$  にも DG にも依存しない aPKC ( $\zeta$ ,  $\lambda/\iota$ ) の 3 グループに大別される。中でも PKC  $\alpha$  は上皮基底層で高発現し、上皮細胞の増殖、分化や癌化に関与する可能性がこれまでの培養細胞を用いた研究から示されてきた。上皮細胞の過増殖による過形成は、創傷治癒や炎症、発癌プロモーターなどの化学物質の暴露や癌好発部位にみられることから、発癌の一機構と考えられている。しかし、動物個体における確定的な証拠はないままであった。本論文は、強力な過形成誘導能を有するホルボールエステル発癌プロモーターの主要標的分子である PKC  $\alpha$  に注目し、動物個体レベルで過形成と癌化について研究した成果をまとめたもので、2章からなっている。

序論では PKC の細胞内での役割について概説し、発癌における問題点、とりわけ上皮組織の再構築系としての過形成が癌の下地になる可能性を論じ、本研究の目的を明確にしている。

第 1 章では、マウス PKC  $\alpha$  遺伝子 (*Prkca*) のゲノム構造と遺伝子座の解析、さらに遺伝子破壊マウス作出について論じている。*Prkca* は 17 のエクソンから成り、その遺伝子座を第 11 番染色体のセントロメアから 65.0 cM 近傍と決定した。遺伝子破壊マウスの作出は、PKC  $\alpha$  が発生初期にも発現するため、Cre-loxP 系を用いたコンディショナル法を採用した。酵素活性に不可欠な ATP 結合部位をコードするエクソン 10 を標的とし、発生工学的手法により遺伝子破壊マウスを作出した。ホモ接合型マウスは正常に発生し、行動や繁殖能に異常は認められず、PKC  $\alpha$  は発生に必須ではないことを明らかにした。

第 2 章では、遺伝子破壊マウスを用いて、表皮過形成と腫瘍形成における PKC  $\alpha$  の役割について論じている。12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) を背部皮膚に投与したところ、野生型に比べ、ホモ型では表皮過形成が顕著に低下した。これは肥厚の促進や遅延でなかった。また、皮膚全層切除による創傷治癒時の過形成も低下していた。表皮過形成の低下は基底細胞の増殖能が低下していることを見出し、PKC  $\alpha$  が基底細胞の増殖を制御し、結果として過形成に関与することを初めて明らかにした。また、発癌物質 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) を背部皮膚に一度投与した後、TPA を週に 2 回、20 週間投与する皮膚二段階発癌実験を行ったところ、ホモ型では高頻度に腫瘍が発生した。しかし DMBA の連続投与でも、ホモ型では高頻度に腫瘍が発生したことから、PKC  $\alpha$  が DNA 修復系に関与する可能性を示した。実際に胎児由来繊維芽細胞を用いて突然変異率を調べ、野生型に比べてホモ型マウス由来の細胞は、高頻度に突然変異を起こすことを明らかにし

た。PKC $\alpha$ がDNA修復系に関与する可能性を初めて示した。

総合討論として、PKC $\alpha$ が過形成に促進的に働く機構と腫瘍形成に抑制的に働く機構を統合し、さらにDNA修復系について論じている。これまで、PKC $\alpha$ は腫瘍形成に促進的に働くものと考えられてきたが、このことを覆す成果である。さらに、PKC $\alpha$ を癌治療の分子標的とすることへの問題点を提起している。

以上、本論文はPKC $\alpha$ が過形成に促進的に、腫瘍発生に抑制的に働くことを明らかにした。また、細胞内の脂質シグナルとDNA修復系との関連性を示し、学術上の貢献は少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。