

審査の結果の要旨

上村 直子

本研究は、肝芽腫をモデルとして網羅的な遺伝子発現解析を行い、肝腫瘍の発生や進展に関与する遺伝子の探索を行った。そして、同定した PEG10 について、タンパク質の発現解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 本研究において、オリゴヌクレオチドマイクロアレイを用いた肝芽腫の網羅的な遺伝子発現解析により、インプリンティング遺伝子が発現亢進していることが明らかとなった。また、PEG10 は肝細胞癌においても高分化型から低分化型まで幅広く、高頻度に発現亢進しており、肝腫瘍において PEG10 遺伝子の発現が亢進することが認められた。
2. 作製した抗体を用いてイムノブロットィングを行い、内在性の PEG10 のタンパク質が -1 フレームシフトを起こし、融合タンパク質を翻訳していることを明らかにした。さらに、COS7 における PEG10 の強制発現の結果より、マウスと同様に、ヒトでもフレームシフトに必要な配列 GGGAAAC を認識して、-1 フレームシフトが生じていることが明らかになった。また、プロテアソームの阻害によって融合タンパク質の発現量が増加したことより、融合タンパク質はプロテアソームを介した切断・分解を受けている可能性が示された。
3. イムノブロットィングおよび免疫組織化学染色より、肝腫瘍における PEG10 タンパク質の発現亢進が明らかとなった。分化型別には、高分化型組織より低分化型組織において、多くの症例で染まる傾向が見られた。PEG10 は腫瘍部全体ではなく一部の腫瘍細胞で発現が亢進しており、不均一な染色性を示した。
4. 共焦点顕微鏡を用いた観察により、PEG10 の局在が核ではなく、ミトコンドリア以外の細胞質全体であることが明らかになった。さらに、細胞間で発現量に差が見られることが示された。

5. 肝腫瘍由来細胞株で、siRNA を用いて PEG10 を発現抑制することによって、細胞の増殖が減少し、PEG10 が細胞の増殖を促進することが明らかになった。

以上、本論文では、肝腫瘍特異的に PEG10 の mRNA およびタンパク質の発現が亢進していることを明らかにし、また、PEG10 タンパク質の翻訳および局在について解析することができた。さらに、PEG10 の発現増加が腫瘍の進展を促進する可能性が示された。よって、本研究における PEG10 の機能解析は肝腫瘍の発生のメカニズムの解明のための手掛かりになり、また、肝腫瘍の治療のターゲットになる可能性も考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。