

審査の結果の要旨

氏名 ファビオ・ピッテラ・シルヴァ

本研究は、cDNA マイクロアレイを用いた肝細胞癌の遺伝子発現プロファイル解析のデータから、2 つの新規治療標的候補遺伝子 *TIPUH1* (Transcription Involved Protein Up-regulated in HCC 1) および *SMYD3* (SET and MYND-domain containing 3) を同定し、これらの遺伝子産物の機能解析を行なったものである。具体的には、この研究で以下の結果を得ている。

1. マイクロアレイを用いた肝癌の発現プロファイル解析の結果では、*TIPUH1* 遺伝子は肝細胞癌 14 症例 11 例において、対象となる同一患者の非腫瘍肝組織よりも発現が亢進していた。半定量 RT-PCR においても、*TIPUH1* の発現上昇は肝細胞癌 10 例中 7 例で認められた。またノーザンブロット解析の結果、正常臓器での *TIPUH1* の発現は精巣および胎盤で認められたが、検討した他の 14 臓器ではその発現は認められなかった。
2. マウス線維芽細胞 NIH3T3 を用いたコロニーフォーメーションアッセイでは、*TIPUH1* の導入は 3T3 細胞のコロニー形成能を促進した。一方、HepG2、Huh7、SNU449 および Alexander などの肝癌細胞株での siRNA による *TIPUH1* 発現の抑制は、これらの細胞の増殖を抑制したことから、*TIPUH1* は癌細胞の増殖に関与していることが明らかとなった。
3. *TIPUH1* の機能を明らかにするため、FLAG タグの付いた *TIPUH1* を発現する細胞を作製し、免疫沈降により *TIPUH1* と共沈するタンパクを抽出した後、質量分析計にてその結合タンパクの同定を試みた。その結果、TIF1 β 、hnRNPU、hnRNPF および nucleolin の 4 つの分子が *TIPUH1* と相互作用することを見いだした。これらの分子は mRNA のスプライシングや転写共役因子として働くことが知られていることから、*TIPUH1* はこれら分子との相互作用因子を介して、遺伝子の発現や転写制御に重要な役割を演じていることが示唆された。
4. 我々は以前に肝細胞癌および大腸癌で発現亢進を認める遺伝子 *SMYD3* を同定し、*SMYD3* がこれらの癌細胞の増殖に深く関わっていることを報告した。本研究では、*SMYD3* の発現は乳癌でも亢進していることを見出した。また siRNA を用いたノックダウン実験から、*SMYD3* は乳癌細胞の増殖にも関与することが示された。さらに、著者は *SMYD3* が *WNT10B* の発現を直接的に制御していることを証明した。これらの結果は、*SMYD3* が乳癌の治療標的分子となりうるとともに、Wnt10B を介した癌化への関与の可能性を示すものである。
5. *SMYD3* に関する新たな知見として、癌細胞において分子量の異なる *SMYD3* が発現して

以上、本論文は肝癌で高発現する分子 **TIPUH1** が肝癌治療の新規標的分子であることを示すとともに、**TIF1 β** 、**hnRNPU**、**hnRNPF** および **nucleolin** などその結合するタンパク群を介して、**RNA** のスプライシングや、転写に関与していること、これらの分子との結合の阻害が、機能抑制につながる可能性があることを示した。また **SMYD3** に関しては、肝癌や大腸癌だけでなく、乳癌の治療標的としても有望であること、またその酵素活性にはタンパクのアミノ基末端の切断などの転写後調節に関与していることを示した。以上、本学位論文は肝癌の発生・進展に関与する新たな分子の同定と、その機能の解明、および肝細胞癌、大腸癌、乳癌を含む癌に対する新規の治療法の開発に寄与するものと考えられる。したがって本論文は、学位の授与に値するものと考えられる。