

学位請求論文の内容の要旨

論文提出者氏名	総合医療・健康科学領域プロテアソーム解析学 氏名 細井一広
<p>(論文題目)</p> <p>ラット肝化学発癌過程における Cyclophilin B の発現変化</p>	
<p>(内容の要旨：和文で 2,000 字程度)</p> <p>【背景】サイクロフィリン (Cyclophilin : CyP) は、免疫抑制剤であるシクロスポリンに結合するタンパクとして発見された酵素群である。ラット CyPB はアミノ酸 183 残基からなるタンパクであり、他の種 (ウシおよびヒト) と高い相同性 (約 93%) を有している。その機能としてポリペプチドにおけるプロリンのアミド結合の cis-trans 異性化を触媒する peptidylproline cis-trans isomerase (PPI 活性) の他、グリコシル基の転移など多くの機能を持ち、さらに変性タンパク、糖質コルチコイドレセプターやイオンチャネルなどを含む分子複合体の共調節ユニットとして機能を有するものも知られている。CyP はまた、CyPA、CyPB、CyPC など多数の分子種の存在が知られており、中でも CyPB は HCV 複製の促進に関与しているため肝硬変や肝がんなどの肝疾患に関連することやヒト肝細胞癌 (HCC) および結腸癌組織の 78% および 91% において CyPB が過剰発現し、その過剰発現は患者の生存率を減少することが示されたが、その生理学的な役割の詳細は不明な点が多い。</p> <p>【目的】本研究では、ラット CyPB の N 末端ペプチドおよび C 末端ペプチドを抗原として抗 CyPB 抗体を作製し、Solt-Faber 法に従いラット肝化学発癌による前がん病変 (Hyperplastic nodule : HN) を発現誘導し、これらの肝臓における CyPB の発現変化について基礎的検討を行うことを目的とした。</p> <p>【方法】HN の作製は Solt-Farber 法に従い、DEN (200mg/kg) を腹腔内投与した後、基礎食を 2 週間自由摂食させた。次に 0.02%FAA を含む粉餌を与え、1 週間後に肝部分切除 (PH) を行った。その後、7 週間飼育し経過期日ごとにラットを安楽死させ肝臓および血液を採取した (DF 群)。また、DEN 単独投与群 (D 群)、0.02%FAA 単独投与群 (F 群) も 7 週間飼育し、同様に肝臓および血液を採取した。経過期日ごとの HN の発現は、GST-P の発現により確認した。作製した HN の部分肝切除後を 0 週とし、1 週後、3 週後、4 週後、5 週後、7 週後における抗 CyPB 抗体を用いて各モデルの肝臓および血清中抗 CyPB の発現量を測定した。</p> <p>【結果】正常肝および HN における両抗 CyPB 抗体 (C 末端および N 末端) 陽性タンパクは、約 20kDa 付近にバンドが検出された。HN における両抗体陽性タンパク発現量は正常肝に比較して 1.2~2.9 倍であった。正常ラットでの CyPB の発現臓器は肝臓および精巣であり、その発現量は肝臓で高く、DF 群でさらに高かった。DF 群において GST-P の発現が認められ HN の発現誘導が確認できた。GST-P 発現量は経時的に増加し、最終的に約 17 倍となった。肝臓中 CyPB 濃度は PH 時点では、DF 群、D 群、F 群のいずれもコントロール群 (C 群) と同様の発現量を示した。DF 群の肝臓中 CyPB 濃度は 1 週後から 5 週後にかけて増加傾向を示したが、7 週後には C 群と同様の発現量となった。また、DF 群の血清中 CyPB 濃度について C 群の 3 週後を基準値とし標準化したところ、DF 群は 4 週後以降において他群と比較して経時的に上昇した。7 週後においては、基準値の約 1.7 倍の値を示した。</p>	

【考察】生体内で機能しているラット CyPB のアミノ酸数は 183 個と考えられ、その質量数は 20112.7 であることから、今回 HN において両抗体で検出された分子量約 20kDa のバンドは CyPB であると考えられた。DF 群においては GST-P より早期に肝臓中 CyPB の発現が誘導されることが明らかとなった。しかしながら、ヒト HCC での報告とは異なり、肝での CyPB の発現誘導は過剰までは至らなかった。また、HCC での進行度を示すマーカーとしての可能性について検討するため、ラット血清における CyPB の発現量を解析したが、過剰な発現までは至らなかった。一般にヒト腫瘍マーカー酵素である GST P1-1 の血清中レベルは、様々な癌種の病期の進んだ患者において高値を示すことが知られているが、肝癌の早期では変動は認められていない。今回検討した試料は HCC とは異なり重症度の低い前がん状態であったことから、肝での発現や血清中での CyPB の変動も不十分であった可能性が考えられる。CyPB の発現や機能の抑制はヒト肝癌において生存率の向上につながる可能性が示唆されている。また、前立腺癌では治療に向けたペプチドワクチンの抗原としての有用性が検討されている。従って、今後化学発癌が進行した試料での発現変化の解析を行い、ラット肝病変での CyPB の機能および有用性についての検討が必要と考えられた。

※1 乙の場合、○○領域○○教育研究分野にかえて、所属の○○講座を記入すること。

※2 論文題目が英文の場合は（ ）内に和訳を付記すること。