

[課程-2]

審査の結果の要旨

氏名 中塚 拓馬

本研究は肝腫瘍発生におけるエピゲノム制御の役割を検討するため、肝細胞特異的に *Pik3ca* 遺伝子を強制発現させたマウス (*Pik3ca* Tg マウス) と、ヒストン脱メチル化酵素 *Kdm3a* ノックアウトマウスを交配させることで、特に PI3K シグナル活性を背景とする肝腫瘍形成における KDM3A の役割につき解析を試みたものであり、以下の結果を得ている。

1. *Pik3ca* Tg マウスは著明な脂肪肝を呈し、約 1 年の経過で肝腫瘍を形成するが、KDM3A ノックアウトにより肝腫瘍形成は著明に抑制された。その際、肝脂肪蓄積や PI3K/Akt シグナル活性への影響は見られなかった。
2. cDNA マイクロアレイの結果、腫瘍形成前のマウス肝において KDM3A 欠損により転写因子 AP-1 の標的遺伝子群の発現が低下していた。リアルタイム PCR による検証により、特に 6 つの肝腫瘍促進遺伝子 (*CyclinD1*、*CD44*、*Chop*、*Mmp7*、*Pdgfrb*、*IL-11*) が KDM3A 依存的に発現している可能性が示唆された。
3. 組織免疫染色およびイムノブロット法により *Pik3ca* Tg マウス肝において c-Jun の活性化を確認した。さらに KDM3A 欠損状態でも同様に c-Jun の活性化が見られることが分かった。すなわち KDM3A 欠損による c-Jun 活性の減弱は見られなかった。
4. クロマチン免疫沈降法により上記 6 つの遺伝子プロモーター領域内 AP-1 結合領域のヒストンメチル化状態を確認したが、KDM3A 欠損によるヒストンメチル化の回復は見られなかった。次に c-Jun の結合状態を確認したところ、*CD44*、*Chop*、*Mmp7*、*Pdgfrb* の AP-1 結合領域において KDM3A 欠損により c-Jun の結合が見られなくなることが分かった。
5. ヒト肝癌細胞株 HLE、SK-Hep-1 を用いたスフィア形成アッセイにて、*CD44*、*Chop* ノックダウン株ではスフィア形成能が低下することを確認した。

6. ヒト肝癌前駆病変の組織標本を用いて KDM3A、c-Jun、p-AKT の免疫染色を行ったところ、全体の約 20%に全ての発現が見られた。特に KDM3A と c-Jun の発現には有意な相関が見られた。

以上、本論文は PI3K シグナル活性化を背景とする肝臓において、KDM3A は脱メチル化活性非依存的な機序により c-Jun/AP-1 の転写活性を制御しており、その結果肝腫瘍形成に寄与していることを明らかにした。さらにヒトにおいても KDM3A と c-Jun の相互作用が肝発がんにおいて重要である可能性が示唆された。本研究は、近年増加している代謝異常に起因する肝発癌の機序解明および治療薬開発などにおいて重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。