



Title	An anti-apopototic function of Wilms' tumor gene WT1 17AA+ isoforms
Author(s)	伊藤, 憲
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46380
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	伊 藤 憲
博士の専攻分野の名称	博 士 (保健学)
学 位 記 番 号	第 20189 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 18 年 3 月 24 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科保健学専攻
学 位 論 文 名	An anti-apoptotic function of Wilms' tumor gene WT1 17AA+ isoforms (ウィルムス腫瘍遺伝子 WT1 17AA+アイソフォームの抗アポトーシス作用)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 杉 山 治 夫 (副査) 教 授 松 浦 成 昭 教 授 川 野 淳

論 文 内 容 の 要 旨

野生型 WT1 遺伝子は白血病細胞および肺癌などの固形癌において高発現しており、癌発症機序において重要な遺伝子である。WT1 遺伝子には 2 ケ所の選択的スプライシング部位が存在し、その結果 4 種類の isoform が存在する。これらのすべての isoform は白血病や固形癌細胞において発現していること、さらに各々の isoform が異なる機能を果たす可能性が報告されているが、癌細胞においてそれぞれの WT1 isoform の癌遺伝子様機能については未だ明確ではない。

本研究主論文では、17AA(+)および 17AA(-)WT1 を標的とした siRNA (WRI 17AA+ or WRI 17AA-) を作製し、WT1 高発現白血病細胞 (K562) に導入したところ、WRI 17AA+においてミトコンドリア上流分子 Bax の活性化を伴うアポトーシスを誘導した。さらに、WRI 17AA+誘導性アポトーシスは内因性アポトーシス経路であるミトコンドリアからの cytochrome c の放出、caspase9-3 の活性化を伴うものであり、外因性アポトーシス経路である caspase8 の活性は見られなかった。一方、WRI 17AA-においてアポトーシスは誘導されなかった。さらに K562 細胞では 17AA(+)KTS(-) WT1 がアポトーシス誘導分子 Bak の発現を抑制し、WT1 の 4 種のアイソフォームのうち 2 種の 17AA(+)WT1 アイソフォーム [17AA(+)KTS(+), 17AA(+)KTS(-)] を白血病細胞株 K562 において過剰発現させると抗癌剤により誘導されるミトコンドリア傷害およびアポトーシスが有意に抑制されることを示した。これらの結果は、17AA(+)WT1 アイソフォームがミトコンドリア上流において内在性アポトーシス経路の活性化を抑制し抗アポトーシス機能を果たすことで白血病発症へ関与していることを示している。

本研究副論文 1 では、WT1 遺伝子が神経膠腫において過剰発現していること、さらに神経膠腫細胞株において WT1 遺伝子の発現をアンチセンス DNA を用いて抑制すると神経膠腫細胞の増殖が抑制されることから WT1 が神経膠腫の癌化過程に関与している可能性そしてこれらの腫瘍に対する治療法の新たな分子標的になりうることを示した。

本研究副論文 2 において、WT1 17AA(-)/KTS(-) isoform が actinin, cofilin, gelsolin の発現を制御し、細胞形態の変化、細胞運動の促進、細胞浸潤を誘導する、WT1 の癌遺伝子様の機能解析を行なった。

これらの結果は WT1 遺伝子のそれぞれの isoform が様々な固形がん細胞において細胞骨格の調節や抗アポトーシスなどの機能を果たし、がん細胞の malignant transformation において重要な役割を果たしていることを示す。

論文審査の結果の要旨

野生型 WT1 遺伝子は白血病細胞および肺癌などの固形癌において高発現しており、癌発症機序において重要な遺伝子である。WT1 遺伝子には2ヶ所の選択的スプライシング部位が存在し、その結果4種類の isoform が存在する。これらのすべての isoform は白血病や固形癌細胞において発現していること、さらに各々の isoform が異なる機能を果たす可能性が報告されているが、癌細胞においてそれぞれの WT1 isoform の癌遺伝子様機能については未だ明確ではない。

本研究主論文では、17AA(+) および 17AA(-)WT1 を標的とした siRNA (WRI 17AA+ or WRI 17AA-) を作製し、WT1 高発現白血病細胞 (K562) に導入したところ、WRI 17AA+においてミトコンドリア上流分子 Bax の活性化を伴うアポトーシスを誘導した。さらに、WRI 17AA+誘導性アポトーシスは内因性アポトーシス経路であるミトコンドリアからの cytochrome c の放出、caspase9-3 の活性化を伴うものであり、外因性アポトーシス経路である caspase8 の活性は見られなかった。一方、WRI 17AA-においてアポトーシスは誘導されなかった。さらに K562 細胞では 17AA(+)KTS(-) WT1 がアポトーシス誘導分子 Bak の発現を抑制し、WT1 の4種のアイソフォームのうち2種の 17AA(+)WT1 アイソフォーム [17AA(+)KTS(+), 17AA(+)KTS(-)] を白血病細胞株 K562 において過剰発現させると抗癌剤により誘導されるミトコンドリア傷害およびアポトーシスが有意に抑制されることを示した。これらの結果は、17AA(+)WT1 アイソフォームがミトコンドリア上流において内在性アポトーシス経路の活性化を抑制し抗アポトーシス機能を果たすことで白血病発症へ関与していることを示している。

本研究副論文1では、WT1 遺伝子が神経膠腫において過剰発現していること、さらに神経膠腫細胞株において WT1 遺伝子の発現をアンチセンス DNA を用いて抑制すると神経膠腫細胞の増殖が抑制されることから WT1 が神経膠腫の癌化過程に関与している可能性そしてこれらの腫瘍に対する治療法の新たな分子標的になりうることを示した。

本研究副論文2において、WT1 17AA(-)/KTS(-) isoform が actinin、cofilin、gelsolin の発現を制御し、細胞形態の変化、細胞運動の促進、細胞浸潤を誘導する、WT1 の癌遺伝子様の機能解析を行なった。

これらの結果は WT1 遺伝子のそれぞれの isoform が様々な固形がん細胞において細胞骨格の調節や抗アポトーシスなどの機能を果たし、がん細胞の malignant transformation において重要な役割を果たしていることを示す。