



Title	Tumour-suppressive function of SIRT4 in human colorectal cancer
Author(s)	三代, 雅明
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/55733
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	三代 雅明
論文題名 Title	Tumour-suppressive function of SIRT4 in human colorectal cancer (大腸癌におけるSIRT4の腫瘍抑制機能)
論文内容の要旨 〔目的(Purpose)〕 NADH依存性の酵素であるsirtuin familyは、代謝・ストレス反応・老化などの多様な細胞内経路に重要な役割を果たしている蛋白群である。その中の1つであるSIRT4は、グルタミン代謝経路の酵素であるglutamate dehydrogenase(GDH)を抑制するとともに、細胞周期を調節しゲノムの安定性に関与していると報告されている。しかしその機能については不明な点が多く、ヒトの癌におけるSIRT4の機能の重要性は未知である。本研究では、大腸癌におけるSIRT4の機能を解明することを目的としている。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 まずSIRT4の機能解明を行うため、pLenti-SIRT4-IRES-Puro vectorを用いてレンチウイルスを作成し、SIRT4の発現量が低い大腸癌細胞株であるSW480,HCT116,HT29のSIRT4過剰発現株を作成し、mRNA・蛋白レベルでのSIRT4の発現量を確認した。SIRT4により抑制されることが知られているGDHの活性は、SIRT4を過剰発現した3つの細胞株いずれにおいても低下していた。次にproliferation, migration, invasionに対するSIRT4の影響を評価したところ、SIRT4過剰発現株ではいずれの細胞株においても低下しており、SIRT4は大腸癌細胞株の悪性度を低下させる働きがあることが示唆された。SIRT4がmigration, invasionを低下させるメカニズムを検討するため、癌細胞の悪性度に関わる主要な細胞接着因子の1つであるE-cadherinとSIRT4との関連性について調べた。その結果、SIRT4過剰発現株ではE-cadherinの発現が上昇していることが明らかとなった。さらにSIRT4による細胞のmigration, invasionの低下・E-cadherinの発現上昇が、GDHの抑制によるグルタミン代謝の阻害に起因するかどうかを調べるため、グルタミンの代謝産物であるα-KG(α-ケトグルタル酸)を添加する実験を行った。α-KGを添加することで、SIRT4の過剰発現により上昇したE-cadherinの発現・migrationの低下は打ち消された。またコントロール株にα-KGを添加しても、migrationに影響を与えなかったことから、SIRT4がグルタミン代謝を阻害すること自体が癌細胞の悪性度を低下させていることが示された。 実際の臨床サンプルにおけるSIRT4の機能と癌の悪性度の関係を調べるために、大阪大学で手術を受けた連続する大腸癌患者142名から癌組織を収集するとともに、癌組織近傍の正常組織と大腸腺腫組織も収集し、免疫染色を施行した。評価は最も占有面積の大きな染色の強さでlow expression、high expressionにわけを行った。正常組織・腺腫組織・癌組織におけるSIRT4 high expressionの割合は、それぞれ61.1% (77/126), 52.6% (20/38), 52.5% (75/142)であり、正常組織で発現量が高い傾向にあった。またSIRT4の発現は、リンパ節転移・リンパ管侵襲・遠隔転移と負の相関関係にあり、特に癌の深達度・Stageの進行とともに、SIRT4の発現が有意に低下することがわかった。またSIRT4 low expression群において無再発生存率が有意に低いことが示された。 〔総括(Conclusion)〕 大腸癌において、SIRT4は腫瘍抑制作用をもつ。SIRT4のGDH抑制によるグルタミン代謝の阻害を介したE-cadherinの発現制御がそのメカニズムに関与していることが示された。SIRT4の低発現は大腸癌の浸潤・転移と関わっており、SIRT4の発現を維持することが大腸癌の有効な治療法となりうることが示唆された。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 三代 雅明	
論文審査担当者	(職) 氏 名 主 査 大阪大学教授 森 正 樹 副 査 大阪大学教授 竹 原 敬 一 副 査 大阪大学教授 小 川 和 孝
	論文審査の結果の要旨
	Sirtuin familyは、代謝・ストレス反応・老化などの多様な細胞内経路に重要な役割を果たしているタンパク群であり、その中の1つであるSIRT4のヒトの癌における機能の重要性は未知である。 まずSIRT4過剰発現大腸癌細胞株を作成した。SIRT4過剰発現株では細胞の増殖能、移動能、浸潤能は低下しており、SIRT4は大腸癌細胞株の悪性度を低下させる機能があることが示唆された。またSIRT4過剰発現株では、癌細胞の悪性度に関与する主要な細胞接着因子の1つであるE-カドヘリンの発現が上昇していることが明らかとなった。臨床サンプルを用いた免疫染色の結果から、SIRT4の発現は癌の深達度・Stageの進行とともに低下し、SIRT4の低発現群が予後不良であることが示された。SIRT4が大腸癌の有効な治療ターゲットとなることが期待され、本論文は学位の授与に値すると認める。