

【研究の背景・目的】

固形がんにおいて、低酸素状態に暴露されたがん細胞は、遺伝子発現を変化させることで低酸素への適応応答反応を誘導し、自らの生存を維持する。転写因子 HIF-1 (hypoxia-inducible factor-1) は、低酸素適応応答の中心的制御因子であり、種々の標的遺伝子 (解糖系酵素や血管新生因子など) の発現誘導を介して、低酸素ストレス下でのがん細胞の生存を促進することが明らかになっている。しかしながら、HIF-1 依存的な低酸素適応応答制御の分子機構については未だ不明な点も多い。

核内タンパク質 PIAS1 (Protein Inhibitor of Activated STAT1)は、翻訳後修飾の一種である SUMO 化修飾反応の E3 リガーゼであり、転写共役因子として様々な遺伝子発現の制御に関与することが知られているが、これまでに、PIAS1 が HIF-1 を介した低酸素適応応答の制御に関与しているか否かについては不明であった。そこで、本研究では PIAS1 が HIF-1 依存的な遺伝子発現におよぼす影響とその分子機構の明らかにすることを目的に解析を行った。

【結果・考察】

はじめに、PIAS1 が HIF-1 で誘導される低酸素応答遺伝子の発現に及ぼす影響を RT-qPCR 法により解析した。その結果、PIAS1 を siRNA により knockdown した 293T 細胞では、低酸素下において HIF-1 のターゲット遺伝子 (GLUT1、HK2) の発現が有意に減少し (図 1)、PIAS1 は HIF-1 依存的な低酸素応答遺伝子の発現を正に制御することが示唆された。

次に、PIAS1 と HIF-1α の結合性について、低酸素培養した U2OS 細胞のライセートを用いて共免疫沈降法により検討した。その結果、内在性の PIAS1 と HIF-1α の共沈降が観察され (図 2)、PIAS1 は HIF-1α と細胞内で複合体を形成することが判明した。

次に、PIAS1 が HIF-1α の SUMO 化修飾に対する影響を検討した。293T 細胞における過剰発現系を用いて共免疫沈降法により解析した結果、PIAS1 は HIF-1α の SUMO 化修飾を促進することが判明した (図 3)。

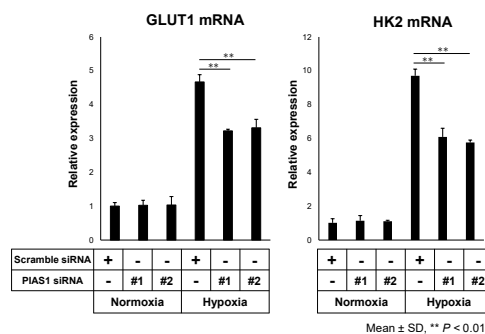


図 1. PIAS1 knockdown による低酸素応答遺伝子の発現抑制

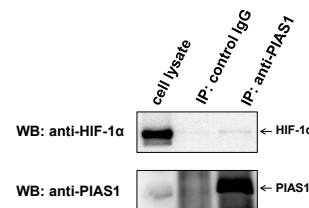


図 2. HIF-1α と PIAS1 の結合

最後に、HIF-1 の転写活性に対する PIAS1 の影響を、HRE レポーター遺伝子を用いて解析した。その結果、293T 細胞を用いた過剰発現系において、PIAS1 はその SUMO E3 リガーゼ活性依存的に低酸素下での HRE レポーター活性を上昇させることが観察され、PIAS1 は SUMO 化修飾依存的に HIF-1 の転写活性を正に制御することが判明した (図 4)。

【まとめ】

本研究の結果から、PIAS1 は、HIF-1 α の転写共役因子として機能し、その SUMO E3 リガーゼ活性依存的に HIF-1 を介する遺伝子発現を正に制御することが明らかとなった。

今後、がん細胞の低酸素適応応答における PIAS1 の腫瘍学的意義を明らかにする必要があると考えられる。

※本研究成果は、現在投稿準備中である。

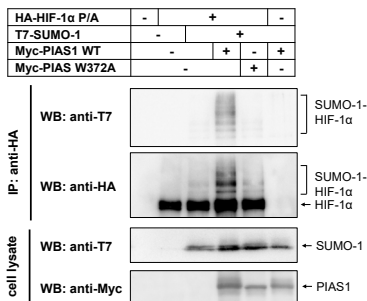


図 3. PIAS1 による HIF-1 α の SUMO 化修飾の促進

※PIAS1 W372A: SUMO E3 リガーゼ活性欠損変異体

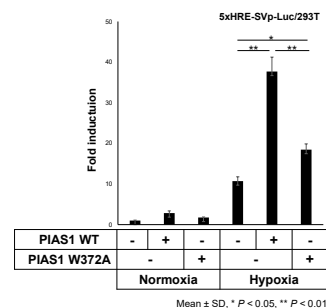


図 4. PIAS1 による HIF-1 α の転写活性増強