

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	櫻井敦朗
論文題目	三次元培養法を用いた活性型Rasが誘導する上皮構造破綻メカニズムの解析		
(論文内容の要旨)			
<p>癌遺伝子 KRas の恒常活性型変異は膵臓癌をはじめとする多くのヒトの癌で観察される。そして、KRas の恒常活性型変異は癌の無限増殖と単層上皮の重層化という形態変化の原因と考えられている。しかしながら、KRas が ERK 経路を介して細胞増殖を誘導するということはよく調べられているが、どのようにして形態変化を誘導するかはいまだ不明なことが多い。本研究では、恒常活性型の KRas が誘導する癌における形態変化がどのようにして生じるのかを調べた。極性を有する単層上皮組織のモデルとして、三次元環境下で培養された MDCK (Madin-Darby Canine Kidney) 細胞の管腔構造を用いた。オーキシン依存的な恒常活性型 KRas タンパク質発現システムを MDCK 細胞に導入し、恒常活性型 KRas の有無による形態変化を観察した。KRas の恒常活性型変異である KRasV12 を発現する MDCK 細胞は、プラスチック培養皿の二次元環境においては、正常細胞と比べて形態的に変化はなかった。しかしながら、細胞外基質のゲル内という三次元環境下では KRasV12 発現細胞は、正常細胞とは異なり管腔構造を形成しなかった。さらに、管腔構造が形成された後に、KRasV12 の発現を誘導すると、管腔を構成していた細胞が内腔へ移動し、内腔が細胞で満たされることが分かった。この過程において、内腔へ移動する細胞の細胞極性が崩壊することを見出した。また、細胞周期をモニターする蛍光プローブを用いたライブイメージングによって、KRasV12 の発現が細胞周期を亢進させることを見出した。阻害剤実験の結果から、内腔での細胞の充満と細胞周期の亢進には、ERK 経路と PI3 キナーゼ (PI3K) 経路の両方が必要であることが分かった。さらに変異体を用いた実験により、ERK 経路の活性化が内腔への移動の最初の段階を誘導しており、PI3K 経路は内腔へ移動した細胞の細胞死を抑制していることが明らかとなった。これらの結果から、ERK 経路と PI3K 経路は共に細胞周期の亢進を誘導しており、さらに細胞の内腔への移動と生存という異なる働きをそれぞれが担うことで、活性型 KRas が上皮構造の形態変化を誘導することが明らかとなった。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

本論文は、癌細胞の特徴である三次構造の破綻がどのようなメカニズムで引き起こされるかについて、癌遺伝子 KRas による形態変化を例にとり研究を行ったものである。申請者は、極性を有する単層上皮組織のモデルとして、三次元環境下で培養された MDCK (Madin-Darby Canine Kidney) 細胞の管腔構造を用いた。この MDCK 細胞に、オーキシン依存的な恒常活性型 KRas タンパク質発現システムを導入し、恒常活性型 KRas の有無による形態変化を観察した。その結果、KRas の恒常活性型変異である KRasV12 を発現する MDCK 細胞は、プラスチック培養皿の二次元環境においては、正常細胞と比べて形態的に変化を誘導しなかった。一方、細胞外基質のゲル内という三次元環境下では、正常細胞は管腔構造を形成するのに対し、KRasV12 発現細胞は管腔構造を形成できなかった。しかも、管腔構造が形成された後に、KRasV12 の発現を誘導すると、管腔を構成していた細胞が内腔へ移動し、内腔が細胞で満たされることが分かった。さらに、阻害剤実験の結果等から、ERK 経路と PI3K 経路は共に細胞周期の亢進を誘導している一方、細胞の内腔への移動と生存という異なる働きをもそれぞれが担うことで、活性型 KRas が上皮構造の形態変化を誘導することを明らかにした。

本論文は、論理的かつ一貫性をもって記述されており、癌遺伝子産物が細胞の三次構造異常をもたらす分子機構について新しい知見を加えている。また、その内容は申請者の生命科学に関する高度で幅広い学識、専攻分野における優れた研究能力を十分に示すものである。以上より、本論文を博士（生命科学）の学位論文として価値あるものと認めた。

なお、平成 27 年 1 月 23 日、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第 8 条の規定により、猶予期間は学位授与日から 3 ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日