

京都大学	博士 (医学)	氏 名	八田 真美子
論文題目	Density- and serum-dependent regulation of the Reck tumor suppressor in mouse embryo fibroblasts (マウス胎児線維芽細胞におけるがん抑制因子 Reck の細胞密度および血清に依存した発現制御)		
(論文内容の要旨)			
Reck は、悪性転換抑制因子として同定された膜結合型糖タンパク質であり、これまでの研究から、マトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) を負に制御すること、種々の悪性腫瘍において頻繁に発現低下が見られること、マウスの胎児発生に必須であることなどが明らかとなっている。しかし、どのような細胞外刺激に応じて Reck の発現が変動するのかについては明らかにされていなかった。 本研究では、マウス胎児線維芽細胞を用いて、種々の培養条件が Reck の発現に与える影響を解析した。その結果、細胞密度が高くなるにつれ、また血清濃度が低くなるにつれ、Reck mRNA およびタンパク質の発現は上昇することが見出された。マウス胎児線維芽細胞において細胞密度の飽和と血清飢餓は、共に細胞周期停止をもたらす。そこで、hydroxyurea、nocodazole、thymidine block などを用い異なる相における細胞周期停止を誘導し Reck 発現を調べたところ、これらの場合には発現上昇が見られなかった。すなわち Reck の発現上昇は、特定の刺激(細胞密度飽和、血清飢餓など) による細胞周期停止に伴ってのみ起こることが示唆された。 次に、Reck 発現の制御に関わるシグナル伝達経路を知るために、インテグリンおよび増殖因子受容体の下流で働くシグナル伝達分子に対する 6 種類の阻害剤の効果を調べた。その結果、PP2 (Src-family kinase 阻害剤)、LY294002 (PI3-kinase 阻害剤)、PF573228 (FAK 阻害剤) が Reck の発現を亢進することが見出された。 これらのデータを解析する過程で、Reck タンパク質あるいは Reck mRNA の量と細胞密度との関係を平面座標上にプロットすると、二次関数曲線上に乗ることが分かった。血清、細胞外基質の構成成分 (I 型コラーゲンやフィブロネクチン)、上記のリン酸化酵素阻害剤およびそれらの標的遺伝子 (v-Src、活性化 PIK3CA 変異体) を作用させると、この二次関数曲線の形が様々に変化した。これらの変化を比較することにより、Src は低細胞密度における Reck の発現抑制、PI3-kinase は血清による Reck の発現抑制、FAK は高細胞密度における Reck の発現抑制にそれぞれ関与することが示唆された。I 型コラーゲンやフィブロネクチンは、高細胞密度において Reck の発現を抑制した。この結果も、高細胞密度における Reck 発現抑制にインテグリン-FAK シグナルが関与することを示唆する。また、血清存在下、低細胞密度における Reck の発現は、trichostatin A (ヒストン脱アセチル化阻害剤) によって促進されたが、5-azacytidine (DNA メチル化阻害剤) によっては促進されなかった。すなわち、この条件下での Reck 発現抑制にはヒストン脱アセチル化の関与が示唆された。 以上の結果より、マウス胎児線維芽細胞における Reck の発現は、細胞外環境の変化 (低密度、血清、細胞外マトリックス) に応じて活性化される少なくとも 3 つのシグナル伝達経路を介して転写レベルで負に制御されるものと考えられる。			

これらの知見は、Reck の生理機能を理解する上で有用であると共に、Reck の発現を効果的に上昇させ悪性形質を抑制するような新たな抗がん剤の探索にも役立つものと考えられる。 (論文審査の結果の要旨) <i>RECK</i>遺伝子は、種々の悪性転換細胞や多くの固形がんにおいて発現低下が見られ、その強制発現が移植腫瘍モデルにおいて血管新生、浸潤、転移の抑制をもたらすことから、発現レベルにおいて不活化を受けるがん抑制遺伝子の一種と考えられている。しかし、正常細胞における<i>RECK</i>遺伝子の発現制御機構については、これまで不明の点が多かった。 申請者らは、マウス胎児線維芽細胞を用い、種々の培養条件が内在性<i>Reck</i>遺伝子産物の発現に与える影響を解析した。その結果、Reckの発現が細胞密度および培地中の血清濃度に依存して大きく変動することを見出した。興味深いことに、Reckの発現量は、細胞密度の2次関数として表すことができ、血清濃度は、この2次関数の3つの係数に影響を与えることが明らかとなった。また、種々のシグナル伝達分子の阻害剤や変異体を用いた実験から、細胞密度によるReckの発現制御にはSrcおよびFAK経路が、血清によるReckの発現制御にはPI3キナーゼ経路が関与することが示唆された。 以上の研究は、がん抑制因子Reckの発現制御機構解明に貢献し、分子腫瘍学の発展に寄与するところが多い。 したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。 なお、本学位授与申請者は、平成21年9月24日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			