

京都大学	博士（ 医科学 ）	氏 名	北 嶋 俊 輔
論文題目	Reversion-inducing cysteine-rich protein with Kazal motifs (RECK) interferes with epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling (RECK による EGFR シグナルの制御)		
(論文内容の要旨)			
<i>RECK</i> 遺伝子は、活性化型 <i>K-ras</i> により形質転換したマウス線維芽細胞 NIH3T3 株を、再びフラットな形状に戻す遺伝子として、ヒト cDNA ライブラリーよりクローニングされた。<i>RECK</i> 遺伝子の発現は、様々な癌遺伝子や癌原性マイクロ RNA(miR-21)により負に制御される。また RECK 蛋白質は MT1-MMP、ADAM10、CD13/APN 等の細胞膜結合型メタロプロテアーゼ群と直接結合し、その活性を抑制する。これらの作用により RECK は癌の浸潤・転移、予後決定や血管新生、さらには Notch シグナルに依存した幹細胞の自己増殖能維持に関与すると考えられており、<i>RECK</i> ノックアウトマウスは、血管新生異常や中枢神経系早熟分化など多様な表現型を伴う胎生致死性を示す。このように個体レベルの RECK 機能は徐々に明らかになりつつあるが、正常の細胞機能における RECK の働きには未解明の部分が多い。当研究では、初期培養マウス繊維芽細胞 (MEF) を用いて RECK の役割を解析した。 その結果、<i>RECK</i> ノックアウト MEF は野生型 MEF に比べて高い増殖能を示すこと、また野生型 MEF において RECK が細胞周期依存的な発現様式を示すことを明らかとした。このことから、RECK が MEF において、細胞増殖や細胞周期の制御になんらかの役割を持っていると推測し、レンチウイルスベクターを用いた RECK 発現抑制系を構築した。その結果、RECK 発現抑制により、ARF/Trp53/p21^{Cdkn1a} 経路依存的な細胞増殖抑制・細胞老化が誘導されることを明らかとした。さらに <i>RECK</i> ノックアウトマウスの解析から、<i>in vivo</i> においても、<i>RECK</i> 欠失により p21^{Cdkn1a} の発現上昇と細胞増殖抑制が誘導されることを明らかとした。 次に、RECK 発現抑制により細胞増殖抑制や細胞老化が誘導されるメカニズムを解明することを目的とした。その結果、RECK が EGF 受容体を負に制御しており、RECK 発現抑制により、EGF 受容体下流の RAS シグナルが一過性に亢進し、さらにその下流の AKT や ERK の活性が亢進、CyclinD1 の発現も上昇することを明らかとした。これら一過性の増殖シグナルの亢進に対する、正常細胞の持つ防御機構として、Sprouty family に代表される RAS シグナルへの負のフィードバック機構が誘導されるが、細胞増殖抑制や細胞老化の誘導は、その結果として引き起こされている現象であることを明らかとした。RECK による EGF 受容体の制御機構の一部として、RECK の細胞膜への結合、および MT1-MMP、MMP-2 の制御が重要であることを明らかとした。またヒト大腸がん細胞株 SW480 において、RECK 過剰発現が、実際に EGF 受容体とその下流シグナルの活性化を抑制することを明らかとした。 本研究は、RAS シグナルの下流として単離された RECK が、RAS シグナルの上流としても機能するという「RECK と RAS の相互抑制モデル」を構築するとともに、RECK が EGF 受容体の活性化を制御する新規のタンパク質であることを明らかとしたものである。			

（論文審査の結果の要旨） 活性化型 K-ras による悪性転換を抑制する遺伝子として発見された膜結合型タンパク質 RECK は、種々の膜結合型メタロプロテアーゼ活性を負に制御することによって、血管新生や腫瘍の浸潤、転移に抑制的に作用することが知られている。また、Notch やインテグリンを介するシグナル伝達系の制御にも関与することが報告されている。 申請者らは、本研究において、RECK が MMP2 および MT1-MMP の活性制御を介して、EGF 受容体の活性を負に制御することを見いだした。また、マウス線維芽細胞において RECK の発現を抑制すると、細胞増殖の抑制と細胞老化が引き起こされることを見出した。これは、EGF 受容体の主な下流シグナルである Ras シグナルの活性化に伴う負のフィードバック機構が優勢に働くためと考えられた。がん抑制遺伝子の不活性化が Ras 依存的な細胞老化を引き起こす現象は、これまでに NF1 や Rb で報告されているが、本研究によって、RECK に関しても同様の現象が起こることが明らかになった。 以上の研究は、RECK の下流として制御される新たな細胞内シグナルの解明とがん抑制遺伝子不活性化に対抗する生体防御反応の理解に貢献し、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（医科学）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 22 年 9 月 28 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			