



Title	Involvement of growth factor receptor bound protein-2 in rat hepatocyte growth
Author(s)	Wada, Shigeo
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3143831
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	和田 滋夫
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 13716 号
学位授与年月日	平成10年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科内科系専攻
学位論文名	Involvement of growth factor receptor bound protein-2 in rat hepatocyte growth. (ラット肝細胞増殖過程における growth factor receptor bound protein-2 の役割)
論文審査委員	(主査) 教授 堀 正二 (副査) 教授 松澤 佑次 教授 祖父江憲治

論文内容の要旨

HGF, EGF, insulin 等の様々な増殖因子が肝細胞の増殖・再生の調節に関与することが知られている。増殖因子受容体からのシグナルを細胞増殖に最も重要な Ras / mitogen-activated protein kinase (MAPK) カスケードの活性化に結びつく分子として growth factor receptor bound protein-2 (GRB-2) が同定された。GRB-2は、分子量約 29kDa で、1つの Src homology 2 (SH2) ドメインと2つの SH3ドメインからなる構造で、その SH2ドメインを介して HGF receptor (MET), EGF receptor (EGF-R), 及び insulin receptor substrate-1 (IRS-1) のリン酸化チロシン残基と結合し、また SH3ドメインを介して Ras 活性化因子 son of sevenless (Sos) と結合することが報告されている。肝細胞の増殖・再生に重要な役割を演じるこれら受容体からの GRB-2を介した情報伝達機構の活性化に関する検討は未だ十分になされていない。そこで、本研究においては、初代培養肝細胞を用いた増殖因子刺激モデル、及び、肝再生モデルにより、ラット肝細胞の増殖・再生過程における GRB-2の役割について検討した。

【方法ならびに成績】

増殖因子刺激モデルは、two-step collagenase 灌流法により得られたラット初代培養肝細胞を、HGF (10ng/ml), EGF (10ng/ml), insulin (100nM) による刺激後、経時的にホモジネートを作製した。ラット肝再生モデルは、Higgins & Anderson の方法に従い部分肝切除術を施行し、切除後経時的にホモジネートを作製した。これら初代培養肝細胞及び再生肝より得られたホモジネートを用いて、MET, EGF-R, IRS-1のチロシンリン酸化、それぞれと GRB-2との結合、及び GRB-2と Sos との結合について、また、GRB-2の SH3ドメインと結合することが知られている dynamin-II との結合についても、それぞれの特異的抗体を用いて免疫沈降後、Western blot 法にて検出し、band 強度を densitometer にて解析した。

初代培養肝細胞では、HGF あるいは EGF 刺激後、MET あるいは EGF-R のチロシンリン酸化はそれぞれ刺激後 5分、10分をピークとして増強した。それぞれと GRB-2との結合は、チロシンリン酸化の変化に同期して増強した。さらに、GRB-2と Sos との結合も同期して変化した。一方、insulin 刺激後、IRS-1のチロシンリン酸化は刺激後10分をピークとして変化したが、IRS-1と GRB-2との結合は、刺激後60分まで持続して増強したが、GRB-2と Sos との結合は、刺激後増強することなく減弱した。また、GRB-2と dynamin-II の結合も、GRB-2と IRS-1の結合の変化とほぼ同様の時間経過で推移した。即ち、GRB-2は、IRS-1からのシグナルを Sos のみならず dynamin-II へも伝達して

いることが示唆された。

肝切除後肝再生モデルにおいては、MET、EGF-R、IRS-1のチロシンリン酸化は、それぞれ肝切除後4時間、4時間、6時間にピークをもって増強した。また、MET、EGF-RとGRB-2との結合はそれぞれのチロシンリン酸化の変動にほぼ同期して変化した。一方、IRS-1とGRB-2との結合の増強は、肝切除後48時間まで持続した。GRB-2とSosとの結合は、肝切除後6時間にピークをもって増強したが、GRB-2とdynamin-IIとの結合は、GRB-2とSosの結合が減弱している肝切除後18時間にピークをもって変化した。即ち、肝切除後早期には、MET、EGF-R、IRS-1からGRB-2に伝達されたシグナルは、GRB-2を介して主にSosに伝達されるが、それ以降の後期の時相においては、IRS-1からのシグナルはGRB-2を介してdynamin-IIへも伝達されることが示唆された。

【総括】

In vitro の系における肝細胞増殖と in vivo の肝再生過程の双方において、GRB-2は、細胞外からの種々の増殖刺激を統合し Sos を介して、Ras / MAPK カスケードを活性化するのみならず、dynamin-II を介したシグナル系の調節にも重要な役割を演じていることが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

Growth factor receptor bound protein-2 (GRB-2) は、種々の増殖因子受容体からのシグナルを細胞増殖に最も重要な Ras / mitogen-activated protein kinase (MAPK) カスケードの活性化に結びつける細胞内情報伝達物質として知られるが、肝細胞の増殖・再生過程に重要な役割を演じるこれら受容体からのGRB-2 を介した情報伝達機構の活性化については未だ不明な点が多い。

本論文では、in vitro の系におけるラット肝細胞増殖と in vivo のラット部分肝切除後肝再生過程の双方において、GRB-2は、細胞外からの種々の増殖刺激を統合し Ras 活性化因子 son of sevenless (Sos) を介して、Ras / MAPK カスケードを活性化するのみならず、dynamin-II を介したシグナル系の調節にも重要な役割を演じていることを明らかにした。今後、肝細胞癌に対する GRB-2 をターゲットとした signal transduction therapy の臨床応用を考慮する上で、本研究で得られた知見は、基礎的な論拠を提示するものと考えられる。

従って、本論文は、学位に値するものと認める。