OUKA
Osaka University Knowledge Archive

Title	新規MAPキナーゼ制御因子Sprouly/Spredの生理機能と癌
Author(s)	加藤, 玲子
Citation	癌と人. 2007, 34, p. 36-37
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/23635
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

新規MAPキナーゼ制御因子Sprouty/Spredの生理機能と癌

加藤玲子*

Ras/MAPキナーゼ(ERK)経路は細胞外刺激に応じて細胞増殖，分化を調節するきわめて重要な細胞内シグナル伝達経路としてよく知られており，またRasの恒常的活性型変異は約30%の癌で見いだされている。しかし，Ras/ERK経路の負の制御メカニズムについては不明な点が多い。Sproutyはショウジョウバエの遺伝学的解析によりFGFシグナルを負に調節する分子として1998年に同定された。ほ乳動物では4種類のSproutyホモログが知られている。さらに我々はレセプター型のチロシンキナーゼであるc-kit(SCF受容体)に会合するSproutyに類似する分子Spredを発見した。我々はSprouty/Spred遺伝子群が増殖因子やサイトカインによるERK活性化を選択的に抑制することを示して来た。このファミリーはジョウジョウバエからほ乳類まで保存された増殖因子シグナルを選択的に抑制する分子群である。しかしその生理機能の解明，さらに癌への寄与に関する理解は今後の課題である。

そこで我々はそれぞれのSpredやSprouty遺伝子を欠くノックアウト(KO)マウスの作製を行ない，機能解析を行なっている。例えばSpred-1欠損マウスは脾腫を示し，骨髄性細胞増多症を示した。この状態は白血病の前癌状態とも言える。このことからSpred1が造血や白血病において負の制御因子であることが示唆された。しかしこのマウスは生後1年程度で死亡するが白血病化することはなかった。白血病となるにはさらに複数の遺伝子変異が必要と思われる。

次にSprouty2遺伝子欠損マウスの作製と機能解析を行なった。このマウスは生後痩せて早期に死亡することはすぐにわかったが，その理由は食道の異常な拡張（アカラシア）と腸にガスが溜まることによる摂食消化不良によるものであった。このような病態はヒトのHirschsprung病としてよく知られている症状に似ている。この病気は消化管を支配する神経の発生に必要な増殖因子GDNFとその受容体c-Ret（チロシンキナーゼの一種）の異常による消化管神経細胞の減少が原因のことが多い。しかもSprouty2はチロシンキナーゼの制御因子である。ということでおそらくGDNF-Retのシステムに異常があるのでは？と考えて解析を行なった。しかし私の所属する研究室では免疫や造血の研究の経験は豊富であるが，神経のことはどうしてよいのか全く見当もつかず，しばらく手をこまねくという状態が続いた。ともかく九大の解剖学教室の中村先生（現久留米大学）にお願いして大学院生にwhole-mount法で神経を染色する方法を伝授してもらった。そこで驚くべきことに消化管の神経が太く密になっていることがわかった。Sprouty2を欠損することで神経の数が増えているのだ。数が増えすぎることで失調状態に陥るのであろう。癌とは直接は関係ないかもしれなしが，非常に面白い発見と思われた。

ではsprouty2欠損マウスの神経はGDNF応答が変化しているのか？消化管の電気生理はどうなっているのか？もちろん我々では手がでないので九州大学生理学教室の石橋先生に後根神経節(DRG)のパッチクランプをやってもらったが差がでない。消化管以外の神経には影響はなさそうで，消化管そのものを使わないと無理，ということで心臓血管研の西村淳二先生にお願いして輪切りにした食道や腸を使った収縮の実験をさせてもらった。これも慣れぬ実験ながら西村先生の熱心な指導のかいあってうまく食道でのアセチルコリンによる収縮力が5倍以上大

きくなっていることを示した。食道の神経と筋肉では2型ムスカリン型アセチルコリン受容体(M2AchR)が機能している。そこで免疫染色でM2AchRを染めると確かにKOマウスの食道ではM2AchRが大量に発現していることがわかった。これでアカラシアの症状は説明できた。ではGDNFに対する応答はどうなのか？何度もリン酸化ERK組織染色を行なったがなかなかうまく検出できなかった。相当文献を調べて，条件を見当しパラフィン切片でうまくリン酸化抗体の免疫染色ができた。予想通り欠損マウスの神経叢だけがリン酸化ERKで染まった。

次にこの表現型にGDNFが本当に必要なのか示さなければならない。通常はGDNF欠損マウスと交配してGDNFが少なければ表現型が改善されることを示さなければならない。名古屋大学の高橋教授からGDNF欠損マウスをもらってかけあわせをはじめたが時間がかかってしかたがない。そこで免疫系ではよく使われる抗体によるblockingの実験を思いついた。GDNF抗体を投与して表現型がレスキューされることを示そうというものだ。かなり高価で何度もできる実験ではなかったがGDNFモノクローナル抗体を購入してマウスに注射した。幸運なことにちゃんとGDNF抗体はアカラシア症状を緩和し神経の過増殖過密度も是正した。すなわちSprouty2がGDNFシグナルを抑制し，正常な消化管神経の発達に必要な分子であることは間違いない。

このように本研究では多数のかたがたにお世話になった。この場を借りて御礼申し上げたい。しかしSprouty2欠損によって神経が増えることでなぜ腸管の運動に障害がでるのだろう。どうやって死ぬべき神経と残す神経を見分けているのだろう。Sprouty2は神経再生に応用できないのだろうか？もちろんRetはがん遺伝子であり，多発性内分泌腫瘍症（MEN）2A型，2B型，家族性甲状腺髄様癌（FMTC）の原因遺伝子である。このマウスではRetの関係する癌にならないのだろうか？Sproutyは複数遺伝子があるために相補されている可能性もある。これらの疑問は今後の研究で解決されることだろう。

＊九州大学生体防御医学研究所
平成17年度一般学術研究助成金交付者