



Title	Full Oncogenic Activities of v-Src Are Mediated by Multiple Signaling Pathways ; Ras AS AN ESSENTIAL MEDIATOR FOR CELL SURVIVAL
Author(s)	小田嶋, 純子
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42623
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	お だ じま じゅん こ 小 田 嶋 純 子
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 6 0 7 4 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 13 年 3 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科内科系専攻
学 位 論 文 名	Full Oncogenic Activities of v-Src Are Mediated by Multiple Signaling Pathways ; Ras AS AN ESSENTIAL MEDIATOR FOR CELL SURVIVAL (v-Src による細胞の腫瘍化におけるシグナル伝達分子の機能解析)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 金 倉 譲 (副査) 教 授 平 野 俊 文 教 授 竹 田 潤 二

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

正常の細胞増殖機構において細胞内シグナル伝達分子は増殖因子等の外界からの刺激を核に伝え、細胞増殖・分化・生存などを制御する遺伝子の発現を誘導する。一方、多くの癌遺伝子も細胞内シグナル伝達分子を活性化することが報告されており、これらの腫瘍細胞においては恒常的に細胞内シグナル伝達分子が活性化されることが腫瘍化の原因であることが証明されてきた。しかし、これらの腫瘍細胞においては癌遺伝子によって複数のシグナル伝達経路が同時に活性化されているため、個々のシグナル伝達分子・経路の細胞の腫瘍化における役割の詳細は明らかではなかった。そこで、本研究では癌遺伝子 v-Src による腫瘍化をモデルにし、個々のシグナル伝達分子・経路の役割を詳細に検討した。

【方法ならびに成績】

マウス IL-3 依存性細胞株 Ba/F3 に v-Src 及び SH2 領域を欠失した v-Src Δ SH2 を導入し、それぞれの分子を高発現する Ba/F3 /v-Src、Ba/F3 /v-Src Δ SH2 を単離した。両クローンの細胞増殖を検討した結果、Ba/F3 /v-Src では IL-3 非存在下でも増殖することが可能であったが、Ba/F3 /v-Src Δ SH2 は IL-3 非存在下では増殖を示さなかった。個々のシグナル伝達分子の活性化をウエスタンブロット法で解析した結果、Ba/F3 /v-Src では signal transducers and activators of transcription 3 (STAT3)、phosphatidylinositol 3-kinase (PI3-K)、Ras/mitogen-activated protein kinase (MAPK) の恒常的な活性化が認められたが、Ba/F3 /v-Src Δ SH2 ではいずれの分子の活性化も認められなかった。これらの結果から、v-Src は SH2 領域を介してこれら 3 種類のシグナル伝達分子・経路を活性化すると考えられた。

Ba/F3 /v-Src に Lac-inducible システムを用いてこれら 3 分子の dominant-negative (DN) 型変異体 (STAT3、PI3-K Δ p85、RasN17) を各々発現させた。まず、それぞれの DN 型変異体の効果をルシフェラーゼアッセイ、PI3-K アッセイを用いて検討したところ、各々の DN 型変異体は v-Src によるそれぞれのシグナル伝達分子・経路の活性化をほぼ完全に阻害したが、他の 2 つの経路の活性化には影響を及ぼさなかった。この結果から、v-Src は STAT3、PI3-K、Ras/MAPK を個々に活性化すると考えられた。

各 DN 型変異体が v-Src による増殖に及ぼす影響について検討したところ、v-Src による増殖は STAT3 D により約 60%、PI3-K Δ p85 により約 40% 抑制された。また、RasN17 は、Bcl-2 の発現低下と Caspase 3 の活性化を

伴うアポトーシスを誘導した。RasN17を誘導した場合、アポトーシスのため RasN17が細胞増殖に及ぼす影響を正確に解析することができなかった。そこで、RasN17を発現するクローンに Bcl-2 あるいは Caspase 3 の阻害分子 cIAP 1、cIAP 2 を過剰発現させた。これらのいずれのクローンにおいても RasN17によるアポトーシスはほぼ完全に阻害されたが、その際、v-Src による増殖は約85%抑制された。

次に、v-Src による増殖を STAT 3 と Ras がどのように制御するのかを検討するために、STAT 3 D と RasN17 の細胞増殖制御分子の発現に及ぼす影響をノザンブロット法で検討した。その結果、STAT 3 D はサイクリン D 2、サイクリン E、c-myc の発現を抑制し、RasN17はサイクリン D 2、サイクリン D 3、c-myc、c-fos の発現を抑制することが明らかとなった。これらの結果から、v-Src によって活性化された STAT 3 と Ras/MAPK 経路は一部は重複するが、一部は異なった細胞周期制御因子の発現を制御すると考えられた。

【総括】

v-Src は Ba/F 3 細胞において STAT 3、PI3-K、Ras/MAPK を恒常的に活性化し IL-3 非依存性増殖を可能にしたが、v-Src が最大限の増殖誘導効果を示すためにはこれら全てのシグナル伝達経路の同時活性化が必要であった。また、Ras/MAPK 経路は v-Src による増殖のみでなく細胞生存に必須のシグナル伝達系であると考えられた。

論文審査の結果の要旨

本研究の結果、v-Src 癌遺伝子による腫瘍化における各シグナル伝達分子の機能の詳細が明らかにされた。この結果から、癌細胞においては複数のシグナル伝達分子が同時に活性化されているが、特定のシグナルを阻害することにより、その増殖、生存を強く阻害することが可能であることが示唆された。本研究の結果は、シグナル伝達分子の阻害剤による癌治療の可能性、有効性を示唆するものであり、基礎研究としての意義のみでなく、臨床的な意義も有しており、学位に値する研究と考えられる。