



Title	Amino acid transport in a human neuroblastoma cell line is regulated by the type I insulin-like growth factor receptor
Author(s)	王, 宏生
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45222
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 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	フジ 王 宏 生
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 18109 号
学位授与年月日	平成 15 年 9 月 30 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科生体統合医学専攻
学位論文名	Amino acid transport in a human neuroblastoma cell line is regulated by the type I insulin-like growth factor receptor (ヒト神経芽細胞腫 cell line において、アミノ酸トランスポートは IGF-I receptor により制御される)
論文審査委員	(主査) 教 授 福澤 正洋 (副査) 教 授 大 藪 恵一 教 授 宮 崎 純一

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

Insulin-like growth factor I (IGF-I) および IGF-II は type I insulin-like growth factor receptor (IGF-IR) を介して mitogenesis の促進、transformed phenotype の維持、apoptosis の抑制などにより癌細胞増殖を促進する作用を有することが知られている。一般に癌細胞のアミノ酸細胞内トランスポート活性は非癌細胞に比べ遙かに高く、その活発な増殖を維持するための重要な因子の一つと考えられている。特にグルタミン (Gln) は癌細胞の増殖にとって必須のアミノ酸として知られている。小児の代表的固形腫瘍である神経芽細胞腫は通常、周囲組織に浸潤、転移し進行性の経過をとるが、一部には自然消退するものもあり、その生物学的特異性の原因は不明である。本研究の目的は、ヒト神経芽細胞腫 cell line を用いて、IGF-IR からのシグナルがアミノ酸の細胞内トランスポート活性を維持させることでその細胞増殖に関与していることを示すことにある。

【方法】

ヒト神経芽細胞腫の cell line として SK-N-SH を用いた。培養液は DMEM に 10%FBS, 2 mM Gln を加え、5% CO₂/95%Air, 37°C の条件下で培養した。抗 IGF-IR 抗体として α IR3 (2 μ g/ml) を用いた。対象を、control 群 (DMEM + 10%FBS + 2 mM Gln)、control + α IR3 群、Gln 欠乏群 (DMEM + 10%FBS)、Gln 欠乏 + α IR3 群の 4 群に分類した。細胞増殖は、一定数の細胞を 96-well tissue culture dish に植え、24 時間後にそれぞれの培養液に変え、1、2、3 日後に細胞数を MTT 法にて測定した。アミノ酸トランスポートは、細胞が 90-100% confluence になった時点でそれぞれの培養液に変え、その 24 時間後に ³H-アミノ酸の含んだリン酸バッファー液と 1 分間反応させ、細胞内の ³H を測定した (cluster tray method)。核酸および蛋白合成の指標として ³H-thymidine および ³H-leucine incorporation を、細胞膜 IGF-IR は flow cytometry にて測定した。

【結果】

細胞増殖速度は培養液の Gln 濃度に依存した。IGF-IR 抗体 α IR3 の投与により、control および Gln 欠乏群のいずれにおいても、細胞増殖はそれぞれ有意に抑制された。Gln 欠乏群における Gln 細胞膜トランスポートは control に比し有意に低下したが、グルタミン酸 (System X_{AG}⁻)、MeAIB (System A) および leucine (System L) のトランス

ポートは control に比しそれぞれ有意に増加し、いわゆる up-regulation を認めた。これらの up-regulation は α IR3 投与により block され、control のレベルまで低下した。control + α IR3 群における Gln および MeAIB トランスポートは control に比し有意に低下した。Gln 欠乏群での核酸および蛋白の合成は control に比し有意に低下し、 α IR3 投与によりさらに低下した。Gln 欠乏 48 時間および 96 時間後における細胞膜 IGF-IR はそれぞれ control より 30%、25%増加した。

【総括】

ヒト神経芽細胞腫 cell line, SK-N-SH において、Gln の欠乏状態および非欠乏状態のいずれにおいても、IGF-IR からのシグナルがアミノ酸細胞内トランスポート活性を維持させることが明らかとなり、本機序が神経芽細胞腫の細胞増殖に関与する可能性が示された。

論文審査の結果の要旨

本論文では、神経芽細胞腫 cell line、SK-N-SH を用い、栄養素の欠乏下における細胞増殖の機序を IGF-I receptor (IGF-IR) とアミノ酸細胞内トランスポートの面より検討した。IGF-I receptor 抗体 (α IR3) の投与により細胞増殖が有意に抑制された。グルタミン (Gln) 欠乏によりグルタミン酸、MeAIB およびロイシンのトランスポートは有意に上昇した。この up-regulation は α IR3 投与により抑制された。蛋白および核酸合成は α IR3 投与により抑制された。また、Gln 欠乏により IGF-IR の発現が増加した。本研究は、IGF-IR からのシグナルがアミノ酸トランスポート活性を維持させることで、細胞増殖に関与することを明らかにした最初の研究であり、神経芽細胞腫の治療法の開発につながる重要な研究であるといえる。以上より、本論文は学位の授与に値すると考えられる。