

Title	Enhancement of Serum- and Platelet-derived Growth Factor-induced Cell Proliferation by Necl-5/Tage4/Poliovirus Receptor/CD155 through the Ras-Raf-MEK-ERK Signaling
Author(s)	角永, 茂樹
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45426
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	かく なが しげ き 角 永 茂 樹
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 19324 号
学位授与年月日	平成17年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科臓器制御医学専攻
学位論文名	Enhancement of Serum- and Platelet-derived Growth Factor-induced Cell Proliferation by Necl-5/Tage4/Poliovirus Receptor/CD155 through the Ras-Raf-MEK-ERK Signaling (Ras-Raf-MEK-ERK シグナルを介したネクチン様分子 Necl-5/Tage4/ポリオウィルスレセプター/CD155 による血清および血小板由来増殖因子依存性細胞増殖の促進)
論文審査委員	(主査) 教授 高井 義美 (副査) 教授 吉川 秀樹 教授 宮坂 昌之

論文内容の要旨

〔 目的 〕

Necl-5は細胞間接着分子ネクチンに構造上類似したネクチン様分子(Nectin-like molecule: Necl)ファミリーの一つである。Necl-5はポリオウィルスレセプターとして同定され、ヒトや齧歯類の種々のがんにおいて発現が上昇していることが報告されていたが、その生理的機能は明らかではなかった。これまでに私の所属する研究室では、Necl-5がインテグリンと協調して細胞増殖因子による細胞運動の促進に関与していることを明らかにしている。今回私は、Necl-5と血清や細胞増殖因子による細胞増殖との関係について検討した。

〔 方法ならびに成績 〕

Necl-5による細胞増殖の促進

NIH3T3細胞を24時間血清飢餓により細胞周期を同調させた後、血清刺激し、細胞数を数えた。Necl-5の細胞外領域に対するモノクローナル抗体(mAb-s)を作用させると、野生型と比較して細胞増殖の速度が上昇し、最終的に細胞密度が上昇した。Necl-5の細胞内領域を欠失したNecl-5のドミナントネガティブ変異体(Necl-5-ΔCP)を強制発現させると、細胞増殖の速度が低下した。このNecl-5の作用は他の細胞株のSwiss3T3細胞やmouse embryonic fibroblastにおいても認められた。

Necl-5による細胞周期の短縮

血清飢餓でG₀/G₁期に同調したNIH3T3細胞を血清刺激した。通常、18時間後にG₀/G₁期からS期への細胞周期の移行が認められる。このとき、mAb-sを作用させるとS期に移行する細胞が増加し、Necl-5-ΔCPを発現させるとS期への移行が著しく遅延した。血小板由来増殖因子(PDGF)や繊維芽細胞増殖因子による刺激でも同様の結果が得られた。

Necl-5による細胞周期調節因子の制御

G₁ 期から S 期へ移行する時、通常、CyclinD2 や E は血清刺激後、徐々に発現が上昇する。mAb-s を作用させると CyclinD2 や E の発現量が増加し、Necl-5-ΔCP を発現させると発現時期が遅延し、発現量も減少した。一方、p27^{kip1} は血清刺激後から徐々に分解される。mAb-s を作用させると p27^{kip1} の分解が早くなり、Necl-5-ΔCP を発現させるとその分解が遅延した。

Necl-5 による Ras-Raf-MEK-ERK シグナルの制御

血清や PDGF 刺激後の Ras の活性化を Pull Down Assay で調べた。野生型と比較して、mAb-s を作用させると Ras の活性は増強され、Necl-5-ΔCP を発現させると Ras の活性は弱くなった。ERK の活性化についても調べたが、同様の結果が得られた。Ras の上流である PDGF 受容体の活性化を、PDGF 刺激後、リン酸化抗体で調べた。その結果、mAb-s を作用させても、Necl-5-ΔCP を発現させても、PDGF 受容体の活性に変化は認められなかった。

がん細胞の増殖における Necl-5 の影響

がん遺伝子 Ras や v-Src で形質転換した細胞では、Necl-5 の発現が上昇する。そこで、がん遺伝子 Ras や v-Src で形質転換した NIH3T3 細胞に Necl-5-ΔCP を発現させ、細胞周期への影響を検討した。その結果、これらのがん化した細胞においても Necl-5-ΔCP を発現させると、G₀/G₁ 期から S 期への細胞周期の移行に遅延が認められた。

[総括]

私は、Necl-5 が細胞増殖を制御していることを明らかにした。また、その制御は Ras-Raf-MEK-ERK シグナルを介した細胞周期調節因子サイクリン D2 の発現、p27 の分解によるものであった。Necl-5 の作用点は、PDGF 受容体の下流で、Ras の上流であることも明らかにした。以上のことから、Necl-5 は運動のみならず、Ras-Raf-MEK-ERK シグナルを介して血清および血小板由来増殖因子に誘導された細胞増殖の促進に関与すると考えられる。

論文審査の結果の要旨

Necl-5 は細胞間接着分子ネクチンに構造上類似したネクチン様分子 (Nectin-like molecule : Necl) ファミリーの一つである。Necl-5 はポリオウィルスレセプターとして同定され、ヒトや齧歯類の種々のがんにおいて発現が上昇していることが報告されていたが、その生理的機能は明らかではなかった。

申請者は、本研究において、Necl-5 と血清や細胞増殖因子による細胞増殖の関係について検討した。その結果、Necl-5 は正常細胞の増殖を亢進させた。また、Necl-5 のドミナントネガティブ変異体を強制発現させると、正常細胞やがん細胞の増殖を抑制した。FACS 解析により、Necl-5 は G₁ 期の短縮に関与していた。Necl-5 は Ras-Raf-MEK-ERK シグナル伝達経路を介して細胞周期調節因子サイクリン D2 や E の発現、p27 の分解を制御していた。以上の結果から、Necl-5 は血清や細胞増殖因子による正常細胞やがん細胞の増殖促進に関与していることが明らかとなった。

がん細胞は異常な細胞増殖能を獲得することから、本研究は、実験結果自体の意義だけでなく、今後のがん研究への発展性も期待できるものと言える。したがって、学位授与に値すると考えられる。