

Title	Leucine-rich $\alpha$ -2-glycoprotein promotes TGF $\beta$ 1-mediated growth suppression in the Lewis lung carcinoma cell lines
Author(s)	武本, 憲彦
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/53922">https://hdl.handle.net/11094/53922</a>
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

論文内容の要旨  
Synopsis of Thesis

氏名 Name	武本 憲彦
論文題名 Title	Leucine-rich $\alpha$ -2-glycoprotein promotes TGF $\beta$ 1-mediated growth suppression in the Lewis lung carcinoma cell lines (Leucine-rich $\alpha$ -2-glycoproteinはLewis lung carcinoma細胞株に対するTGF $\beta$ 1を介した増殖抑制機能を促進する)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>Leucine-rich <math>\alpha</math>-2-glycoprotein (以下LRG)はヒト血清中から発見された糖鎖修飾を持つ蛋白であり、蛋白認識モチーフであるleucine-rich repeat (LRR)を含む蛋白質間相互作用に関わると言われるLRR familyに属する。LRGはリウマチやクローン病、潰瘍性大腸炎の疾患活動性マーカーとなることが報告されており、癌では肺癌、卵巣癌、胆管癌、膵癌患者の血清中また組織中のLRGの発現上昇が報告されている。しかし、LRGの機能に関してはTGF <math>\beta</math> 1シグナルを調節して血管新生を促進するという報告があるが、癌に対する機能は未だ不明である。本研究はマウス肺癌細胞株であるLewis lung carcinoma cell (以下LLC)におけるTGF <math>\beta</math> 1の細胞応答に対するLRGの機能を解析することを目的とした。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>C57BL/6JマウスをWild type (WT) とし、独自開発したLRG KOマウスを用いてLLC細胞株の皮下移植モデルを作成したところ、LRG KOマウスでは腫瘍増殖速度の有意な上昇が認められた。またLRG強制発現LLC株およびコントロール株を樹立しWTマウスに皮下移植したが、LRG強制発現株移植群では腫瘍増殖速度の有意な低下が認められた。LLC親株、LRG強制発現株、コントロール株をTGF <math>\beta</math> 1で刺激し、細胞増殖に与える影響をそれぞれWST-8アッセイでの検討したところ、LRG強制発現株は細胞増殖抑制作用が有意に強かった。またLRG強制発現株の培養上清から精製したLRGを添加時はTGF <math>\beta</math> 1刺激後の細胞増殖抑制作用が有意に増強されていた。</p> <p>LRG強制発現株とコントロール株のTGF <math>\beta</math> 1刺激時におけるCaspase3, 9活性をCasapase-Glo assayで、蛋白発現レベルおよび遺伝子発現レベルをそれぞれウェスタンブロット法と定量的PCR法で比較検討したところ、LRG強制発現株のほうでcaspase3, 9の活性化は有意に強く、smad2のリン酸化の増強、Bcl family proteinの発現減弱、TIEG発現レベルの増強が認められた。</p> <p>LRG KOマウスとWTマウスのLLC皮下移植モデルにTGF <math>\beta</math> 1RI inhibitor (SB431542)を腹腔内投与したところ、LRG KOとWTマウスの移植腫瘍体積の差が縮小し、また各群における腫瘍組織をTUNEL染色しアポトーシス細胞を計数比較したところアポトーシス細胞数の差が縮小した。</p> <p>ヒトでの癌細胞の検討として肝細胞癌であるHep3Bを用いた。ウェスタンブロット法でHep3Bの培養上清中にLRGを発現していることを確認し、siRNAを用いてLRGをノックダウンし、TGF <math>\beta</math> 1刺激時のWST-8アッセイ施行したがLRGをノックダウンすることでTGF <math>\beta</math> 1による増殖抑制作用が減弱していた。同様にTGF <math>\beta</math> 1刺激後の蛋白発現レベルおよびCaspase 3, 9活性をそれぞれウェスタンブロット法およびCasapase-Glo assayで比較検討したところ、LRGノックダウン時の方がsmad2のリン酸化が弱く、caspase3, 9の活性も減弱していた。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p><i>in vitro</i>, <i>in vivo</i>においてLRG存在下ではTGF <math>\beta</math> 1によるapoptosisの誘導を増強することによりLLC細胞の増殖が抑制された。LRGはTGF <math>\beta</math> 1のsmad2 signalingの増強および下流のBcl familyの発現を抑制することでLLC細胞のapoptosisの誘導を増強した。ヒト肝細胞癌であるHep3BにおいてもLRGはTGF <math>\beta</math> 1-smad2 signalingを介してapoptosisを増強した。</p>	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 武本 憲彦	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学教授 猪 原 秀 典
	副 査 大阪大学教授 金 田 安 史
	副 査 大阪大学教授 野々村 祝夫
<p><b>論文審査の結果の要旨</b></p> <p>Leucine-rich <math>\alpha</math>-2glycoprotein (以下LRG) という糖鎖修飾を持つ蛋白の癌における生理機能の解析の研究を行った。LRGは様々な癌腫で発現上昇を認める。また内皮細胞においてはTGF <math>\beta</math> と直接結合しそのシグナル修飾するという報告があるが癌における機能は未だ不明である。</p> <p>LRGがほとんど発現していないLewis lung carcinoma (以下LLC) cellsを用いて LRG KOマウスおよびWTマウスに移植を行ったところ、KOに移植した腫瘍のほうが有意に増殖速度が速く、逆にLRG強制発現LLCを移植したほうが増殖速度が抑制された。LLCだけではなくHe3B細胞においてLRG存在下ではTGF <math>\beta</math> 1のsmad2のリン酸化増強およびその下流のsignal pathwayの増強を通じてアポトーシスが增強される。さらにTGF <math>\beta</math> receptor I 阻害剤であるSB431542を投与することでKOマウスと比較してWTマウスの移植腫瘍内のアポトーシスがより強く阻害された。LLC細胞のようにTGF <math>\beta</math> 1で増殖抑制が惹起される細胞ではLRG存在下ではアポトーシスの誘導が強く起こる可能性を示唆した。これらの研究成果は博士(医学)の学位授与に値する。</p>	