



Title	Suppression of spontaneous activation of EGFR-mediated signal transduction by cholesterol
Author(s)	高山, 美里
Citation	大阪大学, 2024, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/96404
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、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

論文内容の要旨

氏 名 （ 高 山 美 里 ）

論文題名

Suppression of spontaneous activation of EGFR-mediated signal transduction by cholesterol
(コレステロールによる上皮成長因子受容体シグナル伝達の自発的活性化の抑制)

論文内容の要旨

細胞は、外部からの刺激を受け、様々な受容体を介して下流のシグナル伝達を活性化させ、増殖、運動、生存などが適切に制御されている。例えば、上皮成長因子受容体 (Epidermal Growth Factor, EGF) によるシグナル伝達では、細胞がEGFで刺激され、EGFがEGF受容体 (EGFR) に結合し、EGFRのリン酸化、多量体形成を経て、下流にシグナルが伝達され、細胞外シグナル調節キナーゼ (Extracellular Signal-regulated Kinase, ERK) がリン酸化された後に細胞質から細胞核内へ移行する。その結果、細胞の増殖や成長が誘導される。このような細胞の振る舞いを誘導するシグナル伝達は、自発的には起こらず、外部からの刺激があることによって初めて起こるように制御されている。特に、多細胞生物のEGFシグナル伝達系では、通常は外部刺激に依らない自発的な活性化やそれによる細胞の成長・増殖が抑制されており、そのような仕組みが機能しなくなると過剰な細胞増殖が引き起こされガン等の疾患の原因となる。しかしながら、EGFRを介するシグナル伝達の自発的な活性化を抑制する仕組みは明らかになっていない。

本研究では、EGFRシグナル伝達系を対象として、シグナル伝達系の入力となる活性化型EGFRの細胞膜上での時空間動態と、出力となるERKの核移行を細胞内でライブイメージング解析できる実験・解析系を開発した。具体的には、自動細胞内1分子イメージング法を適用することによって、大量の細胞からEGFRの1分子時空間動態を計測・解析することで、EGFRの活性化に伴う拡散運動の変化や多量体形成量の変化を定量化した。また、蛍光標識したERKの細胞内局在の変化を共焦点顕微鏡法によって可視化することで、ERKへのシグナル伝達の効率を定量化した。すなわち、EGFRの活性化（入力）を1分子動態解析によって捉えるとともに、EGFRによって駆動されるシグナル伝達系の活性化（出力）をERKの局在変化によって捉えることが可能となった。こうしたEGFRシグナル伝達系の入力と出力を同一細胞で計測できることから、個々の細胞における受容体レベルでの活性化状態と下流へのシグナル伝達の入出力関係を解析する1細胞分析が可能になった。こうした研究を進める中で、活性化因子であるEGFの刺激がなくてもEGFRが自発的に活性化してERKの核移行を誘導することを見出し、正常な細胞ではEGFRの自発的活性化が抑制されることを明らかにした。また、細胞膜からコレステロールを除去した細胞ではEGF刺激に依存しないEGFRの自発的活性化が更に強く起こり、ERKの核への局在変化もより強く起こることを見出した。そのようなコレステロール除去によるEGFRの自発的活性化やERKの局在変化は、コレステロールを再度細胞に添加すること起こらなくなった。

本研究の結果は、コレステロールが、EGFRを介したシグナル伝達経路の自発的な活性化を抑制していることを示唆している。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (高山美里)			
論文審査担当者		(職)	氏 名
	主 査	教授	上田 昌宏
	副 査	教授	松野 健治
	副 査	教授 (東京慈恵会医科大学)	橘木 修志

論文審査の結果の要旨

細胞は環境からの刺激によって増殖や移動運動などが調節される。例えば、上皮成長因子 (epidermal growth factor, EGF) のシグナル伝達では、細胞が EGF で刺激されると細胞質にある ERK が細胞核内に移行して遺伝子発現を変化させ、細胞の成長・増殖が調節される。こうしたシグナル伝達は、環境に刺激があることではじめて起こるように制御されている。特に多細胞生物の EGF シグナル伝達系では、EGF 刺激に依存しない細胞増殖が抑制されており、この仕組みが破綻すると過剰な細胞増殖が引き起こされて癌などの疾病の原因となる。実際、EGF 受容体 (EGFR) の恒常的な活性化を引き起こす突然変異は非小細胞肺がんなどの癌の原因となっている。しかしながら、EGFR が媒介するシグナル伝達の自発的な活性化を抑制する仕組みは明らかになっていない。

本博士論文において高山美里氏は、EGFR シグナル伝達系による ERK 核移行の制御の仕組みを調べる中で、細胞膜成分の一つであるコレステロールが EGFR シグナル伝達系の自発的な活性化を抑制することを発見した。高山氏は EGFR の振る舞いを 1 分子レベルで観察するとともに、ERK の核移行を同時に観察できる実験系を開発した。正常な細胞では、EGF 刺激による EGFR の活性化に伴って、EGFR の自己リン酸化、拡散運動の低下、多量体形成の促進が起こり、EGF 刺激によってはじめて ERK が核に移行することが知られている。こうした EGFR の活性化に伴って起こる現象が、細胞膜からコレステロールを除去することにより、EGF 刺激がなくても自発的に起こることを高山氏は見出した。さらに、コレステロールの人工的な添加により EGFR の自発的な活性化が抑制されること、またコレステロールは EGF 刺激による EGFR の多量体化を促進することにも働き、ERK の核移行の効率を促進することをあわせて明らかにした。コレステロールは細胞膜上でラフト様の微小領域を形成することが知られているが、こうした微小領域が EGFR の自発的な活性化を抑制し、刺激があると多量体形成を促進することでシグナル伝達の効率を上げることを示唆している。

これら一連の発見は、EGFR シグナル伝達系の自発的な活性化が抑制される仕組みの一端を明らかにしており、細胞内シグナル伝達の仕組みの理解に寄与するものであるとともに、過剰な細胞増殖が原因となる癌などの疾患の予防や治療の戦略への応用可能性を示している。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。