

論文内容要旨

論文題目

Regulation of TGF- β signaling by ELAC2

ELAC2 による TGF- β シグナル制御機構

責任講座：耳鼻咽喉科学 講座

氏名： 野田 大介

【内容要旨】

TGF- β シグナルは、多くの細胞に細胞増殖抑制やアポトーシスを引き起こすことが知られている。一方、多くの腫瘍細胞では、TGF- β シグナルの伝達に関与する分子の遺伝子変異が起こり、TGF- β による細胞増殖抑制やアポトーシスへの感受性を失うことにより異常増殖を起こすと考えられている。

TGF- β でアポトーシスを起こす前立腺細胞株である NRP-154 に、ヒト K562 細胞 cDNA の発現ライブラリーが入ったレトロウイルスベクターを感染させ、その後 TGF- β 存在下で培養し続けることで、TGF- β によるアポトーシスに耐性になったクローンを選択した。耐性クローンで発現していた遺伝子断片のひとつとして、前立腺癌関連遺伝子として知られていた ELAC2 が同定された。そこで、ELAC2 遺伝子の変異が TGF- β シグナルを阻害し、前立腺癌を進展させている可能性を調べることを目的として本研究を行った。本研究により、ELAC2 は TGF- β シグナルを増強すること、特に Smad2 を介した TGF- β シグナルに影響を与えることが示された。また、ELAC2 は、Smad2 の MH2 領域と結合し、Smad2 は、ELAC2 の N 末端から 217 番目の領域 (ELAC2(1-217)) に結合することを明らかにした。ELAC2(1-217)は、野生型 ELAC2 と同様に、Smad2 と恒常活性型 TGF- β I 型受容体に結合し、TGF- β シグナルを増強した。また、ELAC2(1-217)は、ELAC2 と同様に核内に局在し、TGF- β 刺激時に核内で Smad2 と共局在した。

次に、前立腺癌患者で見つかった ELAC2 変異体を作成し、TGF- β シグナルに対する作用を検討したが、変異 ELAC2 も野生型の ELAC2 と同程度に TGF- β シグナルを促進した。報告されている ELAC2 の変異は、217 番のアミノ酸より C 末端側の領域にあるので、このことは、ELAC2 の N 末端から 217 番目までの領域が TGF- β シグナルに対して野生型 ELAC2 とほぼ同様な活性を有していることから予想される結果であった。従って、本研究により、ELAC2 には TGF- β シグナルを増強する作用があることが示されたが、その作用は N 末端側 (1-217 番目) にあり、ELAC2 の変異をもつ人に前立腺癌の発症率が高い理由を説明することはできなかった。

さらに、PC3U 細胞に ELAC2 を発現させ、安定発現細胞株を作成して、TGF- β による細胞増殖抑制効果を検討した。細胞内に ELAC2 を強く発現していると、TGF- β の増殖抑制作用に対する反応性が増強していた。このことから、ELAC2 は、TGF- β シグナルを促進することにより細胞増殖抑制に関与していることが示唆された。ELAC2が TGF- β シグナルを増強する機構については、現在のところ明らかでなく、今後の検討課題である。




平成17年1月31日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名： 野田 大介

論文 題目： Regulation of TGF- β signaling by ELAC2
(ELAC2によるTGF- β シグナル制御機構)

審査 委員： 主査 後藤 薫 
副査 浅尾 裕信 
副査 本郷 誠治 

審査終了日：平成17年1月21日

論文審査結果要旨

TGF- β シグナルは、多くの細胞に細胞増殖抑制やアポトーシスを引き起こすことが知られている。野田君は本研究において、TGF- β に耐性になった前立腺上皮細胞株であるNRP-154から同定されたELAC2（前立腺癌関連遺伝子）について、TGF- β の細胞内シグナル機構における機能解析を行った。

その結果、(1) ELAC2とTGF- β シグナルに関係する細胞内シグナル伝達分子であるSmadとの結合を免疫沈降法及びウエスタンブロット法で検討したところ、恒常活性型TGF- β I型受容体(ALK5ca)に依存して、ELAC2とSmad2が結合することを見いだした。(2) ELAC2とSmad2のそれぞれの結合部位を免疫沈降法及びウエスタンブロット法を用いて検討し、ELAC2のN末端から217番目の領域(ELAC2(1-217))とSmad2のMH2領域が結合することを明らかにした。(3) PC3U細胞を用いてELAC2の安定発現細胞株を作成し、TGF- β による細胞増殖抑制効果を検討することにより、ELAC2を強く発現する細胞では、TGF- β の増殖抑制作用に対する反応性が増強することを見いだした。(4) 前立腺癌患者で見つかったELAC2変異体を作成しTGF- β シグナルに対する作用を検討することにより、作製したすべてのELAC2変異体はALK5ca存在下でTGF- β シグナルを亢進すること、また野生型ELAC2に比べ亢進作用が減弱している傾向がみられたが、少なくとも野生型のELAC2とは逆にTGF- β シグナルに抑制的に作用することはないことを見いだした。

以上の結果より野田君は、前立腺癌関連遺伝子産物であるELAC2がSmad2との結合を介してTGF- β シグナルを促進する活性をもつことを明らかにした。

本研究は、これまで知られていなかったELAC2に関わる細胞内情報伝達機構の解明に大きく貢献していると考えられるので、学位審査委員会は本研究が博士(医学)の授与に値するものと判定した。