


医研第313号

(別紙様式第3号)

論 文 要 旨

論 文 題 目 Proteomic Changes in a Squamous Cell Carcinoma Cell Line
Induced by an Effector Kinase of a Small G Protein Rap2
(低分子量 G 蛋白質 Rap2 の標的キナーゼによる扁平上皮癌
細胞株のプロテオーム変化)

氏名 國 伴 弘 一 

(目的)

私共は癌遺伝子産物 Ras に類似した構造を持つ低分子量 G 蛋白質 Rap2 の下流標的キナーゼとして TNIK (Traf2- and Nck-interacting kinase) を同定したが、TNIK の生理的・病理的役割は殆ど知られていない。本研究では、TNIK の腫瘍細胞での機能を調べるため、扁平上皮癌細胞株に TNIK を過剰発現により活性化した際のプロテオーム変化を解析した。

(方法)

培地中のテトラサイクリンの有無で目的蛋白質の発現を調節出来る TetOff システムを用い、TNIK を過剰発現により活性化できる Pam212 マウス扁平上皮癌細胞株を樹立した。TNIK 過剰発現細胞と Pam212 細胞の蛋白質発現プロファイルを二次元電気泳動 (2-D DIGE) により比較し、有意な差を示した蛋白質を質量分析計 (MALDI-TOF/MS) で同定した。

(結果)

TNIK の過剰発現により 3 つの蛋白質の発

現が増加し、6つの蛋白質の発現が減少した。これら9つのうち、5つが同定可能であった。同定された蛋白質は isovaleryl coenzyme-A dehydrogenase (増加)、Rho GDP dissociation inhibitor alpha (減少)、stomatin-like protein 2 (減少)、ribosomal protein, mitochondrial, S22 (減少) 及び ornithine aminotransferase (減少) であった。

(考察)

同定された5つの蛋白質のうち、3つの蛋白質、Rho GDP dissociation inhibitor alpha、stomatin-like protein 2 及び ornithine aminotransferase は、腫瘍悪性度や化学療法感受性の予測因子あるいは新規化学療法薬の標的分子として報告されている。Rho GDP dissociation inhibitor alpha は、各種悪性腫瘍、特に化学療法抵抗性例で発現の亢進が報告されており、培養細胞では発現量と薬剤抵抗性が相関するとの報告もある。Stomatin-like protein 2 も各種悪性腫瘍、特に転移を伴う例で発現が

亢進しており、予後の予測因子として報告されている。また、培養細胞では薬剤抵抗性に関与するとの報告もある。Ornithine aminotransferase は、新規化学療法薬 diazonamide A の標的分子として報告されており、悪性腫瘍細胞の正常な有糸分裂に必要であることが見出された。TNIK は、これらの蛋白質の発現抑制を通じ、悪性腫瘍に抑制的に働く可能性が示唆された。

(別紙様式第7号)

論文審査結果の要旨

(1)

報告番号	* 課程博 論文博	第 号	氏名	國仲 弘一
論文審査委員	審査日	平成 20 年 2 月 1 日		
	主査教授	森 直樹		
	副査教授	吉見 直己		
	副査教授	石川 元		
(論 文 題 目)				
Proteomic Changes in a Squamous Cell Carcinoma Cell Line Induced by an Effector Kinase of a Small G Protein Rap2				
(論文審査結果の要旨)				
上記の論文に関して、研究に至る背景と目的、研究内容、研究成果の意義と学術水準について慎重に検討し、以下のような審査結果を得た。				
1. 研究の背景と目的				
Rap2 は癌遺伝子産物 Ras の類縁分子である。Rap2 は Ras の標的分子群と結合することから、Ras と同じシグナルを伝達すると考えられていた。しかし、Rap2 と Ras では、標的結合領域の1アミノ酸が異なる。著者らはこの事に着目し、Rap2 の特異的下流標的分子として、TNIK (Traf2- and Nck-interacting kinase) を同定した。しかし、TNIK の生理的・病理的役割は殆ど知られていない。今回著者らは、TNIK の癌細胞における機能を調べるため、マウス扁平上皮癌細胞である Pam212 細胞を用いて TNIK を強発現した細胞株を樹立し、二次元電気泳動及び質量分析にて、TNIK 強発現下で発現量の変化するタンパク質を検索した。				

- 備考 1 用紙の規格は、A4とし縦にして左横書きとすること。
 2 要旨は800字～1200字以内にまとめること。
 3 *印は記入しないこと。

2. 研究内容

TNIK 強発現細胞株を作成するため、テトラサイクリンにて目的遺伝子発現の調節が可能な Tet-Off システムを用いた。TNIK 強発現株および親株である Pam212 細胞よりタンパク質を抽出し、各々異なる蛍光波長を持つ色素で標識し、二次元電気泳動を行った。スポット解析の結果、9 つのタンパク質スポットにおいて発現の有意な変化が認められた。これらのうち、質量分析にて、5 つのタンパク質が同定された。そのうち癌の悪性形質に関係する可能性の高い3 つのタンパク質 Rho GDP dissociation inhibitor (Rho GDI)、stomatin-like protein 2、および ornithine aminotransferase (OAT) はすべて TNIK 強発現下で発現が減少していた。Rho GDI は細胞の悪性形質転換や抗癌剤耐性への関与と癌細胞での過剰発現が報告されている。Stomatin-like protein 2 は癌細胞の増殖及び転移に関わるとの報告、また OAT は癌細胞の分裂に必要であるとの報告がある。TNIK の強発現下でこれらのタンパク質の発現が減少する事は、TNIK が癌細胞の悪性化や増殖、及び抗癌剤耐性に関して負の作用を持つ可能性を示唆していた。

3. 研究結果の意義と学術水準

本研究は、Rap2 の標的分子である TNIK の、癌細胞での役割を、プロテオミクス的手法で検索したものである。TNIK 強発現にて発現量が変化する3 つのタンパク質が細胞の悪性化や増殖、抗癌剤耐性に関与していたことから、TNIK が癌細胞において重要な役割を演じる可能性が示唆された。本研究は TNIK の癌細胞における働きを示した研究であり、癌細胞の悪性形質の成り立ちを解明する端緒となる、有意義で高い水準にある研究と考えられる。

以上により、本論文は学位授与に十分に値するものであると判断した。