



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Study on the Role of the Paxillin-plectin-EPLIN Complex in Apical Extrusion of RasV12 Cells [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	笠井, 信宏
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(理学)
Dissertation Number	甲第13275号
Issue Date	2018-06-29
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/71323
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Nobuhiro_Kasai_review.pdf, 審査の要旨



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士（理学） 氏名 笠井 信宏

審査担当者	主査	教授	坂口 和靖
	副査	教授	高木 睦
	副査	教授	石森 浩一郎
	副査	教授	藤田 恭之

学 位 論 文 題 名

Study on the Role of the Paxillin-plectin-EPLIN Complex in Apical Extrusion of RasV12 Cells

(Paxillin-plectin-EPLIN 複合体による RasV12 変異細胞の管腔側への逸脱に対する役割の研究)

近年、がんに対する新たな知見の1つとして「細胞競合現象」が注目されている。がんの超初期段階を模倣するため、正常上皮細胞層内にごく少数の変異細胞(がん遺伝子 Ras の恒常活性化型タンパク質 RasV12 の過剰発現細胞など)を生じさせると、変異細胞が正常細胞に囲まれたときにのみ、変異細胞が細胞層の頂端側へ排除されることが知られている(Hogan, et al., 2009)。この排除現象は正常上皮細胞層に備えられた「変異に対する防御機構」であると提唱されている。しかしながら、この現象を制御する分子メカニズムについては、まだ多くが謎として残されている。本学位論文では、正常上皮細胞に囲まれた RasV12 変異細胞内で生じる細胞非自律的な変化について新たな知見を報告している。

本学位論文は全4章で構成されている。

第1章では本研究に関する総括的な序論と研究背景および目的を記述している。

第2章では、細胞接着に関わることで広く知られてきた Paxillin や Tubulin のアセチル化による管腔側への逸脱への影響を検討した。これまでに所属研究室では、plectin-EPLIN 複合体が変異細胞内で、変異細胞の管腔側への逸脱を正に制御していることを報告していた。しかしながら、plectin-EPLIN 複合体の下流因子はいまだに不明であった。EPLIN との相互作用が知られていた Paxillin の管腔側への逸脱に対する影響を調べた。まず、Paxillin が EPLIN と正常-変異細胞間の混合培養特異的に結合することを発見した。加えて、Paxillin は正常細胞によって取り囲まれた RasV12 変異細胞内にて集積していることも観察された。Paxillin、Plectin、EPLIN は相互に非細胞自律的な集積を制御しあい、Paxillin は RasV12 細胞の管腔側への逸脱に対して重要な役割を担っていることが分かった。また、正常細胞によって取り囲まれた RasV12 変異細胞においてはアセチル化 tubulin も集積していることを見出した。さらに、tubulin のアセチル化は Paxillin による Histone Deacetylase (HDAC) 6 の活性制御によって促進されていることが示唆された。これらのことから、Paxillin は plectin や EPLIN と協調して tubulin アセチル化の促進によって RasV12 変異細胞の管腔側への逸脱を正に制御していることが示された。

第3章では、安定同位体標識によるタンパク質の定量的比較解析(SILAC)法により同定された IVNS1ABP の管腔側への逸脱に対する影響を検討した。第2章では、Paxillin や Tubulin アセチル化による変異細胞逸脱機構への関与について明らかにした。しかしながら、これらの因子の上流・下流因子はいまだにほとんど不明であるためより詳細な変異細胞の逸脱機構を解明する足がかりとして、変異細胞内で EPLIN に対する新規結合分子の探索を試みた。SILAC (Stable isotope labeling by amino acids in cell culture) 法により、質量の異なる安定同位体をもつアミノ酸(Lys や Arg)で別々にラベルした正常細胞と変異細胞を共培養し、その後 EPLIN にて免疫沈降をおこなった。その結果、共培養特異的かつ変異細胞内で EPLIN に結合する分子として IVNS1ABP を同定した。IVNS1ABP をノックダウンした RasV12 変異細胞は正常細胞層からの逸脱効率が有意に抑制された。これより、IVNS1ABP が変異細胞の逸脱促進に関与している可能性が示唆された。また、。

IVNS1ABP のノックダウンでは、この EPLIN の集積への影響は確認されなかった。これらのことから、IVNS1ABP は共培養条件下で EPLIN に結合し、EPLIN の下流で機能することで、変異細胞の逸脱を制御していることが示唆された。

第4章では、本論文の結論を記述している。

以上の結果より、本研究を通じて、正常上皮細胞に囲まれた RasV12 変異細胞に集積し、変異細胞の排除現象に関わる新たな分子群の同定に成功している。これまでがん研究のブラックボックスであったがんの超初期段階に着目した点はとてもオリジナリティが高く、がんの予防的治療法の確立にも繋がり得る研究内容となっている。

よって、著者は北海道大学博士(理学)の学位を授与される資格あるものと認める。