

論文内容の要旨

申請者氏名 馬島 友

ほぼ全ての哺乳動物細胞には、一次繊毛と呼ばれる微小管を軸糸とする構造体が存在し、細胞のアンテナとして様々な細胞外シグナルを受容する。繊毛の異常は繊毛性疾患と総称される様々な疾患を惹起する一方、多くの癌において一次繊毛の減少や消失が確認されている。難治性の癌である膵管癌では一次繊毛が消失しているが、その消失の分子機構は不明である。本研究室において、キナーゼである Aurora A (AurA) が膵管癌細胞の一次繊毛消失に関わることを示したが、AurA の下流の一次繊毛消失機構の詳細はわかっていない。また、一次繊毛消失が膵管癌細胞にどのような影響を及ぼすかも不明である。そこで本研究では、膵管癌細胞の一次繊毛消失機構、及び一次繊毛が膵管癌細胞の増殖に与える影響を解析した。

まず微小管を分解するキネシンである Kif24 及び Kif2A に着目し、膵管癌由来 Panc1 細胞における Kif24 及び Kif2A 発現抑制時の一次繊毛形成を調べた。その結果、Kif24 発現抑制細胞においてのみ一次繊毛の増加が観察された。さらに Kif24 をリン酸化することが報告されている NEK2 も膵管癌細胞の一次繊毛消失に寄与することが示唆された。次に、Kif24 が AurA や NEK2 によってリン酸化される可能性を検証した。これらの 3 分子を共発現させた HEK293T 細胞の細胞抽出液を用い SDS-PAGE における Kif24 の移動度を調べた。その結果、AurA や NEK2 と Kif24 の共発現で Kif24 の高分子側へのバンドシフトが観察され、このバンドシフトは脱リン酸化酵素処理により消失したことから、AurA, NEK2 により Kif24 がリン酸化される可能性が示された。次に、膵管癌細胞の一次繊毛消失が AurA や NEK2 のリン酸化活性によって制御されるか調べた。Panc1 細胞における野生型の AurA や NEK2 の異所性発現では一次繊毛が減少したのに対し、AurA や NEK2 のキナーゼ活性の消失した変異体の発現では一次繊毛が減少しなかった。さらに、野生型 AurA の効果は NEK2 不活性型変異体の発現により抑制された。一方、Kif24 発現抑制 Panc1 細胞(Kif24-3 細胞)では AurA や NEK2 異所性発現の効果が消失した。以上の結果から、膵管癌細胞において AurA-NEK2-Kif24 リン酸化経路により一次繊毛消失が制御されることが示唆された。

次に、一次繊毛が増加している Kif24-3 細胞を用いて、一次繊毛形成が膵管癌細胞に及ぼす影響を解析した。*in vitro* 解析の結果、Kif24-3 細胞において分裂期細胞の割合が減少していることがわかった。また、生体内における Kif24-3 細胞の腫瘍形成能を調べた。その結果、Kif24-3 細胞において腫瘍重量の減少傾向が認められ、さらに Kif24-3 細胞による腫瘍では一次繊毛の増加、分裂期細胞の減少、及び増殖マーカー陽性細胞の減少が観察された。以上の結果から、Kif24 の発現抑制による一次繊毛の形成誘導は膵管癌細胞の増殖を抑制する可能性が示唆された。

やむを得ない事由[図書出版, 学術雑誌等への掲載, 特許・実用新案出願, 個人情報等の保護, その他 ()]により本要旨を非公表とする。

【※該当する事由に○印をすること】

論文審査結果の要旨

申請者氏名 馬島 友

ほとんどの哺乳動物の細胞には、一次繊毛と呼ばれる突起状の構造体が存在し、細胞のアンテナとして様々な細胞外シグナルを受容する。一次繊毛の減少や消失は多くの癌で確認されており、一次繊毛消失は癌を促進することが想定される。膵管癌は一次繊毛を消失した癌であるが、その消失機構は殆ど分かっていない。本研究室において、キナーゼである Aurora A (AurA)が膵管癌細胞の一次繊毛消失に関わることを見出したが、一次繊毛消失の詳細な分子機構や一次繊毛消失が膵管癌細胞に及ぼす影響は不明である。

申請者は一次繊毛微小管を分解するキネシン Kif24、及び Kif24 をリン酸化し活性化するキナーゼ NEK2 が膵管癌細胞の一次繊毛消失に働くことを見出した。また、Kif24 は NEK2 だけでなく AurA によりリン酸化が亢進されることも示した。次に、膵管癌細胞において、AurA、NEK2、Kif24 がどのように一次繊毛消失に介在するかを調べた。その結果、異所性に発現させた AurA 及び NEK2 はリン酸化活性に依存して、一次繊毛を減少させた。さらに、野生型 AurA の発現による一次繊毛の減少は NEK2 不活性型変異体の発現により抑制されることから、AurA は NEK2 を介して一次繊毛消失に寄与することが示唆された。また、AurA や NEK2 の異所性発現により引き起こされる一次繊毛消失は Kif24 の発現抑制によりキャンセルされることがわかった。さらに、AurA、NEK2、Kif24 のそれぞれ 2 分子の抑制は、単独抑制と比較し一次繊毛形成において相加的効果を示さなかったことから、これらが同一経路で一次繊毛消失に寄与することを示唆した。以上の結果から、膵管癌細胞における一次繊毛消失機構は AurA-NEK2-Kif24 経路によるリン酸化カスケードにより制御されることが明らかとなった。さらに申請者は、Kif24 発現抑制依存的な一次繊毛の形成誘導が膵管癌細胞の増殖に及ぼす影響を調べた。*in vitro* において Kif24 を発現抑制した膵管癌細胞では、分裂期の細胞の割合が減少することを見出した。また、マウス生体において Kif24 発現抑制細胞由来の腫瘍は、野生型腫瘍に比べ重量の減少傾向が観察され、その腫瘍内では分裂期、及び増殖中の細胞数の減少が判明した。これらの結果から、Kif24 発現抑制により誘導される一次繊毛は膵管癌細胞の分裂に影響を与え、腫瘍の増殖を抑制する可能性が示された。本論文から、膵管癌細胞において新規の AurA-NEK2-Kif24 経路が一次繊毛消失に寄与すること、及びこの経路の阻害によって形成誘導される一次繊毛が膵管癌の増殖を抑制する可能性が初めて示された。

以上のように、本論文は膵管癌における一次繊毛消失の分子機構と一次繊毛の役割について新たな知見を加えたものであり、学術上、応用上貢献するところが少ない。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。

やむを得ない事由[図書出版, 学術雑誌等への掲載, 特許・実用新案出願, 個人情報等の保護, その他 ()]により本要旨を非公表とする。

【※該当する事由に○印をすること】