

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	平 賀 理 佐 子
論文審査担当者	主 査 谷口 俊一郎 教授 副 査 竹下 敏一 教授・奥山 隆平 教授
論文題目	
Nox4-derived ROS Signaling Contributes to TGF- β -induced Epithelial-mesenchymal Transition in Pancreatic Cancer Cells (膵癌細胞の EMT における活性酸素産生遺伝子 Nox4 の機能的役割)	
(論文の内容の要旨)	
<p>【背景と目的】 上皮間葉移行 (Epithelial-Mesenchymal Transition 以下 EMT) は、上皮細胞が間葉系細胞に形態変化する現象であり、これにより一定の極性があり細胞同士が密に結合している上皮細胞が、間葉系細胞のように細胞間の結合が疎となり運動能を獲得する。EMT の過程では紡錘様形態の獲得、N-cadherin や vimentin など間葉系マーカーの発現上昇、E-cadherin や ZO-1 など上皮マーカーの発現抑制や Snail, Twist などの転写因子の誘導が起こり、上皮細胞が間葉系細胞様の表現型を獲得する。この EMT は初期胚発生過程や創治癒過程において重要であることが明らかになっているが、上皮系癌細胞が浸潤・転移能力を獲得する際にも重要な過程である。癌細胞では growth factor, cytokines, matrix protein などが EMT を促進しており、膵癌では TGF-β が EMT の主要な誘導因子として知られている。TGF-β による EMT 誘導のシグナル伝達が解明されれば、膵癌の浸潤・転移に対する新たな治療戦略を見出す可能性がある。</p> <p>一方、NADPH oxidase (Nox) ファミリーから産生される活性酸素は多様な生理学的現象においてシグナル伝達物質として働くことが分かっている。Nox ファミリーは NADPH を基質として活性酸素を産生する酵素であり、Nox1-5 と Duox1, 2 の 7 つの構成メンバーから成る。膵癌においては、このうち Nox4 由来の活性酸素が膵癌細胞の増殖に必要であることが報告されているが、Nox ファミリーが果たしている多面的な役割を考えると、膵癌における発癌、癌形質の発現調節に Nox4 が更に関与している可能性がある。実際に転移乳癌細胞における EMT の誘導には、TGF-β により発現増強した Nox4 が関わっていることが報告されている。しかし Nox4 が他の癌腫における EMT にも同様に関与しているのか、また Nox4 の発現増強および産生された活性酸素が如何なる蛋白質を標的として修飾し、その活性を調節するか、そのシグナル伝達については明らかにされていない。</p> <p>本研究では膵癌細胞の TGF-β 依存性 EMT における Nox4 の機能的役割について検討した。</p> <p>【方法】 膵癌細胞株 panc-1 細胞において、TGF-β による Nox4 発現を PCR 法にて確認し、また活性酸素産生量について luminol assay にて検討した。そして Nox4 に対する干渉 RNA (small interference RNA : siRNA) 等を用いて、TGF-β による EMT 誘導について検討した。EMT の確認は、細胞形態の観察又は E-cadherin, Snail の発現を指標とした immunoblot 法、免疫蛍光染色、migration assay で行った。また手術切除標本検体を用いて免疫組織染色を行い、Nox4, TGF-β, N-cadherin の発現について検討した。</p> <p>【結果】 膵癌細胞株 panc-1 細胞において、TGF-β により Nox4 の発現増強および Nox4 由来活性酸素産生量の増加を認めた。Nox4 由来活性酸素は、TGF-β による細胞形態変化、E-cadherin の発現抑制および Snail の発現上昇を媒介し、TGF-β による細胞運動亢進に必要であった。TGF-β-Nox4 による EMT には p38MAPK のリン酸化亢進が伴っていた。さらに TGF-β-Nox4 を介して PTP1B の活性が抑制され、これが E-cadherin 低下 (EMT 誘導) に必要であった。またヒト膵臓がん組織では、TGF-β、Nox4 および EMT を示唆する N-cadherin の産生が亢進していた。</p> <p>【結論】 膵癌における TGF-β 依存性 EMT において、Nox4 は p38MAPK のリン酸化を亢進させ、また PTP1B の活性を抑制することで癌細胞内のレドックス制御を行い、EMT におけるシグナル伝達物質としての役割を果たしていることが示唆された。</p>	

