

氏名・本籍	藤原 守 (愛媛県)
学位の種類	博士 (生命システム科学)
学位記番号	博甲 第44号
学位授与の日付	平成30年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 (課程博士)
学位論文題目	細胞内情報伝達変換器分子のゲノムストレス応答性制御を担う RhoGDI β の研究
学位論文審査委員	主査 教授 達家 雅明 副査 教授 齋藤 靖和 教授 小西 博昭 准教授 菅 裕

学位論文の要旨

第1章では、緒言として背景と目的を述べる。

本研究では、放射線被曝によるゲノムストレスで起こる不都合な生体応答現象を回避させるような分子創薬を最終目的とし、それに関係した細胞内シグナル伝達経路の研究を行った。特に、細胞増殖や細胞運動、細胞骨格の制御に中心的な役割を担っている細胞内情報伝達の変換器分子 (分子スイッチ) である RhoGTPase ファミリーに注目し、その制御因子のひとつである RhoGDI β によるゲノムストレス応答時での制御様式を解明することを目指した。

RhoGDI β は、分子スイッチである RhoGTPase、特に Rac1 の制御因子として知られる。また、この分子は、ヒトのがん進展における転移関連分子として知られる。更に、その分子内に、放射線などで誘発されるアポトーシスで活性化する 3 型カスパーゼによって切断されるサイトを持つ。

第2章では、RhoGDI β のゲノムストレス応答性動態解析結果を述べる。

RhoGDI β はその分子内に活性化 3 型カスパーゼによる切断サイトが存在する。そこで、本研究では、RhoGDI β の活性化 3 型カスパーゼによる切断産物 (N 末欠失型 RhoGDI β 、 Δ N-RhoGDI β) が、ゲノムストレスに曝された後に、アポトーシスに陥った細胞で発現しているのかどうかについて、ヒト子宮がん由来 HeLa 細胞で確かめた。その結果、驚くべきことに、 Δ N-RhoGDI β は、放射線照射されて生き残っている細胞内で長期間 (144 時間以上) 発現が持続していた。

第3章では、 Δ N-RhoGDI β の強制発現による細胞の増殖や生存に関係する形質の変更について述べる。

Δ N-RhoGDI β の強制発現実験を行った。その結果、細胞の増殖能に大きな変更は無かった。また、アポトーシス感受性は増大傾向にあったものの、顕著では無かった。すなわち、RhoGDI β は、3 型カスパーゼの活性化によって起こる細胞死とは直接関係せず、他の細胞機能のシグナル・メディエータ

一であろうと考えられた。

第4章では、 ΔN -RhoGDI β の強制発現による細胞運動に関係する形質の変更について述べる。

ΔN -RhoGDI β が高発現した細胞では、細胞の形態、特にアクチン束の形成がコントロールと比較して低下していたが、ランダムな細胞運動能に大きな変更は観察されなかった。そこで、方向性のある細胞運動能について、試験管内での epithelial wound-healing assay を行った。その結果、 ΔN -RhoGDI β が高発現した細胞では、著しい方向性のある細胞運動能の阻害が起こっていた。

第5章では、 ΔN -RhoGDI β が分子スイッチである RhoGTPase とどのように関係しているのかについて述べる。

細胞分画と免疫沈降法により、RhoGDI β が細胞膜画分で Rac1 と結合しているのに対して、 ΔN -RhoGDI β は、細胞膜画分以外に、細胞質や細胞核に分布し、Cdc42 と結合していることを見出した。また、Cdc42 活性を阻害した。すなわち、RhoGDI β は、細胞膜で Rac1 を阻害する因子として働いているが、ゲノムストレスにより切断された後、細胞内で大きく分布を変更させて、Cdc42 を阻害する因子として働くことがわかった。

第6章では、 ΔN -RhoGDI β の Cdc42 阻害効果がもたらす生理作用について述べる。

Cdc42 は、細胞の極性を制御する分子スイッチとして認識されている。この活性の阻害は、方向性のある分裂や運動が阻害される。また、ハエの研究から、Cdc42 阻害によって、方向性を失った細胞がアポトーシスで失われた細胞を埋める増殖（代償性増殖）を誘導するシグナル経路を活性化することが知られている。そこで、本研究では、 ΔN -RhoGDI β の高発現によって、放射線によるアポトーシスで誘導される代償性増殖が活性化するかどうかを確かめた。その結果、 ΔN -RhoGDI β の高発現では、Cdc42 が阻害されて代償性増殖が促進することがわかった。

第7章では、本研究の総括を述べる。

分子スイッチ RhoGTPase の制御因子である RhoGDI β は、Rac の阻害因子として働いているが、ゲノムストレスでアポトーシスに至らず生存した細胞内で ΔN -RhoGDI β が蓄積し、Cdc42 阻害因子として働く。その結果、ゲノムストレスを受けた生存細胞は、細胞極性を喪失し、代償性増殖の誘導が起こることが示された。このシグナル経路は、特に、RhoGDI β 発現の高い癌腫で機能していると考えられる。放射線治療を受けた場合、生存細胞では ΔN -RhoGDI β の発現によって無秩序な細胞運動が起こり、代償性増殖の誘導により再増殖（再発）へのシグナル伝達経路として機能する可能性が示唆される。RhoGDI β の発現を下げるような作用のある物質の探索は、放射線治療の効果を高めることに繋がるかも知れない。