

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第	号
------	-------	---

氏 名 水 谷 直 貴

論 文 題 目

Increased SPHK2 transcription of human colon cancer cells in
serum-depleted culture: the involvement of CREB transcription factor

(ヒト大腸癌細胞株における転写因子 CREB を介した血清除去時 SPHK2 発現増加機序)

論 文 審 査 担 当 者

主 査 名古屋大学教授 川 部 勤

名古屋大学教授 石 川 哲 也

名古屋大学教授 小 嶋 哲 人

論文審査の結果の要旨

細胞膜の構成成分として知られるスフィンゴ脂質は細胞内の種々の代謝酵素によって代謝され最終代謝産物としてスフィンゴシン 1-リン酸 (S1P) を生じる。S1P は腫瘍細胞の増殖や分化、免疫応答などに関わる重要な生理活性脂質であり、スフィンゴシンキナーゼ 1、2 (SPHK1、SPHK2) によってスフィンゴシンがリン酸化を受けることによって生じる。腫瘍細胞においては SPHK の高発現が認められており、SPHK の発現変化が S1P 産生量の制御を行うことで増殖や生存に関わっていることが知られている。本研究では、腫瘍細胞の増殖に伴う低血流によって生じるストレス条件における SPHK2 の発現変化に着目し、これまで明らかとされていなかった SPHK2 の詳細な発現調節メカニズムについて細胞生物学、分子生物学的解析を行った。

本研究の新知見と意義を要約すると以下のとおりである。

1. 腫瘍細胞の増殖に伴うストレス条件を培養細胞で再現し、大腸癌細胞株を用いて無血清培養、低酸素培養、無グルコース培養を行い、無血清培養での SPHK2 の増加を確認し、無血清培養下では細胞は緩やかに増加する事を明らかにした。
2. 無血清培養下での SPHK2 の上昇を siRNA を用いて抑制することで、細胞増殖が抑制される明らかとし、SPHK2 の上昇が低血流条件での腫瘍細胞の増殖、生存に重要な役割を果たしていることを明らかにした。
3. 無血清培養下において一過性の c-jun N-terminal kinase (JNK) 経路の活性化がおり、転写因子 cAMP response element binding protein (CREB) のリン酸化を引き起こすことを JNK 阻害剤を用いて明らかとした。
4. SPHK2 のプロモーター解析を行い、新規の転写開始点を 5 つ同定した。さらに、最下流の転写開始点から上流約 180 bp のプロモーター領域が SPHK2 の発現上昇に関与していることを明らかにした。
5. 上記のプロモーター領域に CREB が結合することを証明し、このことが無血清培養下の SPHK2 の発現上昇に寄与していることを明らかにした。

本研究では、SPHK2 の腫瘍細胞における発現変化を無血清培養、低酸素培養、低グルコース培養で行い、無血清培養下での SPHK2 の発現増加は、シグナル伝達経路 JNK 経路の活性化を経て、転写因子 CREB のリン酸化による活性化、活性化 CREB の SPHK2 プロモーターの特定の領域 (転写開始点より 180 bp 上流部分) への結合によって引き起こされることを証明した。さらに、SPHK2 の発現上昇が無血清培養下での細胞の増殖に必要であることを SPHK2 の抑制実験により明らかにし、低血流状態での腫瘍細胞の増殖・生存への SPHK2 並びに S1P の関与を強く示唆する所見を得た。なお、本研究成果は Journal of Cellular Biochemistry (IF=3.368) に掲載された (J. Cell Biochem 2015 in press)。

以上の理由により、本研究は博士 (医療技術学) の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。