

# 琉球大学学術リポジトリ


## 低分子量G蛋白質Rap2の標的キナーゼによる扁平上皮癌細胞の表現型変化

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学 公開日: 2014-06-13 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Ulziikhishig, Enkhbaatar, ウルジーヒッシング, エンヘバートル メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12000/29028">http://hdl.handle.net/20.500.12000/29028</a>

(別紙様式第3号)

## 論 文 要 旨

論文題目 Phenotypic changes in a squamous cell carcinoma cell line induced by an effector kinase of a small G protein Rap2  
(低分子量G蛋白質 Rap2 の標的キナーゼによる扁平上皮癌細胞の表現型変化)

氏名 ENKHBAATAR  
ULZIIKHISHIG 印 

## (目的)

低分子量 G 蛋白質 Rap2 は、癌遺伝子産物 Ras の類縁分子であり、TNIK は私共が同定した Rap2 特異的標的キナーゼである。皮膚癌細胞株を用いて TNIK による表現型変化を解析した。

## (方法)

本誌発表の先行学位論文で、皮膚癌細胞株にレトロウイルスで遺伝子導入し、TetOff システムで HA-TNIK の発現を誘導できる株を樹立したが、その中の中等度発現誘導亜株を使用した。非誘導時と誘導時の細胞について、HGF 刺激細胞分散試験、HGF 刺激による MAP キナーゼ Erk の生化学的活性化解析、*in vitro* 創傷治癒細胞遊走試験、 $\text{Ca}^{2+}$  スイッチ試験等で比較した。

## (結果)

HA-TNIK の発現を強く誘導した亜株では、細胞同士の接着が失われコロニーが分散した。一方、中等度に発現した亜株は細胞間接着を維持し敷石状細胞からなるコロニーを形成したので、以降の解析に使用した。

発現誘導し免疫蛍光染色したコロニーを共焦点顕微鏡観察すると、HA-TNIKは細胞間接着装置レベルで接着結合(AJ)の主成分E-カドヘリンと共局在した。HGFで刺激すると、Erkの活性化に差は無いものの、発現コロニーはしばしば分散し、非発現コロニーは分散しなかった。創傷治癒試験では、発現細胞シートは24時間以内に創傷治癒したが、非発現細胞シートは治癒しなかった。Ca<sup>2+</sup>スイッチ試験では、一時的にCa<sup>2+</sup>依存性E-カドヘリン機能を抑制して細胞間接着装置を破壊しても、再度標準状態に戻すと再構成されたが、発現コロニーより非発現コロニーで先に再構成が完成した。

(考察)

TNIKは細胞間接着装置、特にAJに局在する可能性がある。HA-TNIK非発現コロニーはHGF刺激で分散しなかったが、コロニー辺縁細胞は遊走細胞先端端に見られるアクチン細胞骨格再編成を示し、分散しないのは内側細胞との細胞間接着の解除不全を示唆する。創傷治癒試験

でも同様に、創傷縁細胞が接着解除不全により創傷部へ遊走できなかつたと考えられる。

一方、 $\text{Ca}^{2+}$  スイッチ試験での細胞間接着装置の再構成では、発現コロニーでエンドサイトーシスされた E-カドヘリンが核近傍の小胞に残存したことから、リサイクリング小胞から細胞膜への輸送は非発現コロニーの方が迅速と考えられる。私共は Rap2 がリサイクリング小胞に局在して TNIK 機能を制御することを報告しており、TNIK によるリサイクリング小胞の制御が細胞間接着の柔軟な解除に必要と考えたと興味深い。

また、先行論文で私共は、同じ皮膚癌細胞株のプロテオミクス解析を行い、HA-TNIK 発現細胞での Rho ファミリー低分子量 G 蛋白質抑制因子 Rho GDI $\alpha$  の発現抑制を報告しており、TNIK が Rho ファミリー分子を制御して AJ による接着を調節している可能性もある。以上、TNIK は AJ の強度を負に制御することにより癌細胞の表現型を変化させると考えられる。