

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 19 日現在

機関番号：11401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2013～2014

課題番号：25893021

研究課題名(和文) 脂質キナーゼ欠損によるがん抑制メカニズムの解明

研究課題名(英文) PIK3C3 acts as an accelerator in tumorigenesis.

研究代表者

浅沼 研 (asanuma, ken)

秋田大学・医学(系)研究科(研究院)・技術職員

研究者番号：50710125

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：がん抑制遺伝子PTENの欠損により種々のがんが発症する。我々は哺乳細胞におけるホスファチジルイノシトール3リン酸(PI3P)を産生する遺伝子産物Pik3c3と、PtenのT細胞種特異的二重欠損マウスを樹立し、Pten単独欠損マウスにおいて発症するがんが、このPten/Pik3c3二重欠損マウスにおいては抑制され、延命するという知見を得た。Pten欠損マウスと二重欠損マウスとの比較解析により、Pten欠損マウスT細胞においては原がん遺伝子産物Aktが異常活性化状態にあるのに対し、二重欠損マウスT細胞においてはAktの異常活性化が抑制されることを見出した。

研究成果の概要(英文)：The class III phosphoinositide 3-kinase, PIK3C3 is known to contribute to autophagy and regulate intracellular membrane trafficking. However, the role of PIK3C3 in tumorigenesis is little known. In the study, we elucidate that development of T cell lymphoma in T cell specific Pten deficient mouse was suppressed by crossing with T cell specific Pik3c3 deficient mice. In addition, Akt was little phosphorylated in thymus of Pten; Pik3c3 double knockout mice. These findings suggest that PIK3C3 might be a positive regulator for Akt signaling.

研究分野：分子生物学

キーワード：がん イノシトールリン脂質 Pten PIK3C3

1. 研究開始当初の背景

がん抑制遺伝子 *PTEN* にコードされる PTEN タンパク質 (以下 PTEN) は、ホスファチジルイノシトール 3,4,5-三リン酸 [PI(3,4,5)P₃] の三位リン酸基脱リン酸化酵素として知られている。*Pten* 欠損マウスにおいては細胞内の PI(3,4,5)P₃ レベルが上昇し、種々のがんが発症する。今日では「*PTEN* 機能的欠失→PI(3,4,5)P₃ レベルの上昇→発がん」というドグマが広く受け入れられている。

T 細胞種特異的に *Pten* を欠損する *Lck-Cre Pten^{flox/flox}* マウスは生後 200 日齢以内に全例が T 細胞性リンパ腫を発症し死亡する。申請者は、このマウスにおける胸腺細胞内のホスファチジルイノシトールリン酸を定量し、PI(3,4,5)P₃ のみならず PI3P も蓄積していることを見出した。この実験データから、PTEN 欠損は生体内 PI(3,4,5)P₃ レベルの上昇と同時に PI3P レベルの上昇をも引き起こすことにより発がんを惹起するのではないかという仮説を立てた。PI3P とがんとの関連を明らかにする為、哺乳細胞における PI3P 産生酵素である *Pik3c3* を欠損するマウスと *Pten* 欠損マウスとを交配し、T 細胞特異的に *Pten* と *Pik3c3* を二重欠損するマウスを樹立し、*Pik3c3* の欠損が *Pten* 欠損によるがんの発生と進展を抑制しうるか解析を行った。

2. 研究の目的

Pik3c3 欠損によるがん抑制メカニズムを明らかとする。

(1) T 細胞特異的 *Pten* 欠損マウス、*Pten/Pik3c3* 二重欠損マウスの胸腺における PIPs レベルを定量解析し、生体内における PIPs レベルの変動とがんとの関連を明らかにする。

(2) PI3P の下流因子として発がんに関与する分子を同定する。

3. 研究の方法

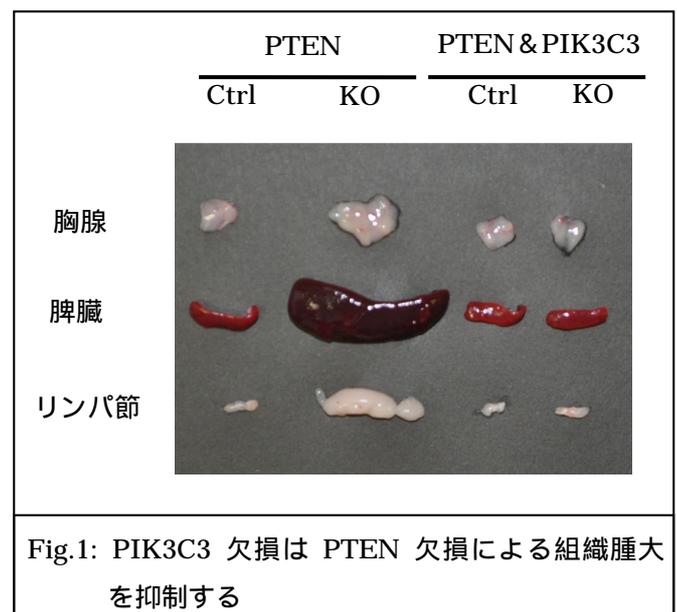
T 細胞腫特異的 *Pten* 単独欠損マウスと、*Pten/Pik3c3* 二重欠損マウスとを比較解析する。

(1) 生体内組織における PIPs レベルの変動とがんとの関連を明らかにする。まず、T 細胞特異的 *Pten* 欠損マウス、*Pten/Pik3c3* 二重欠損マウス各個体を無機リン酸で *in vivo* 標識し、胸腺細胞から PIPs を含む酸性脂質を抽出する。抽出した脂質を陰イオン交換カラムに吸着させ、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いてリン酸バッファーで溶出し、各 PIPs を分離し放射活性を検出することで定量を行う。

(2) *Pten* 欠損マウス胸腺細胞において活性化される (あるいは抑制される) シグナリングタンパク質について、*Pten/Pik3c3* 二重欠損マウス胸腺細胞における変化を Western Blotting の手法を用いて解析する。

4. 研究成果

(1) T 細胞特異的 *Pten* 欠損マウスにおいて発症するがんが、*Pten/Pik3c3* 二重欠損マウスにおいては抑制され (Fig.1)、延命されること (図 1) を明らかとした。



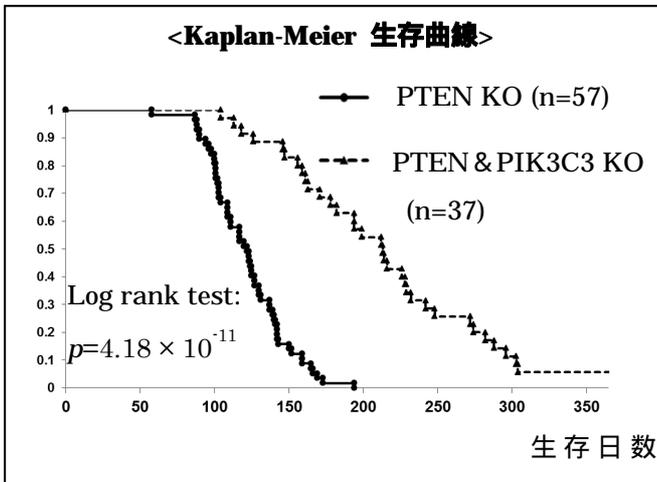


図.1: PIK3C3 欠損は PTEN 欠損マウスを延命する

(2) T 細胞特異的 *Pten* 欠損マウス及び、*Pten/Pik3c3* 二重欠損マウス胸腺細胞の PIPs 定量を行い、*Pten* 欠損マウスにおいては PI3P が蓄積しているが、*Pten/Pik3c3* 二重欠損マウスにおいては PI3P の蓄積から回復している事を明らかとした (図 2)。

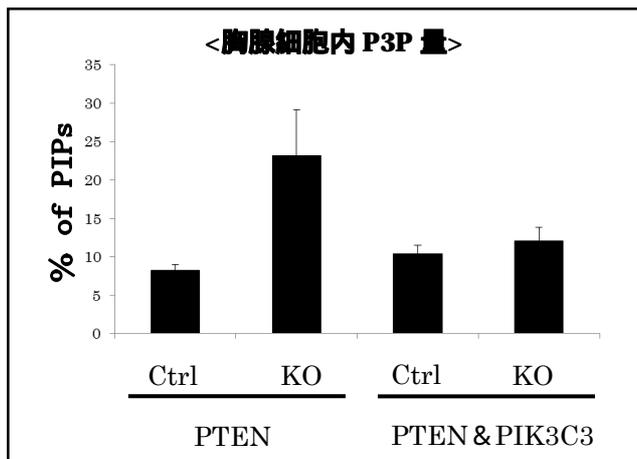


図.2: PTEN 欠損マウス胸腺細胞における PI3P の蓄積は PIK3C3 の欠損により回復する

(3) T 細胞特異的 *Pten* 欠損マウス及び、*Pten/Pik3c3* 二重欠損マウス胸腺細胞の細胞破碎液を作製し、Western Blotting によりがんに関わるシグナル伝達因子の活性化状態を解析した。*Pten* 欠損マウス胸腺細胞においては原がん遺伝子産物である Akt が

異常活性化していたが、*Pten/Pik3c3* 二重欠損マウス胸腺細胞においてはこの Akt の異常活性化から回復していた (Fig.2)。

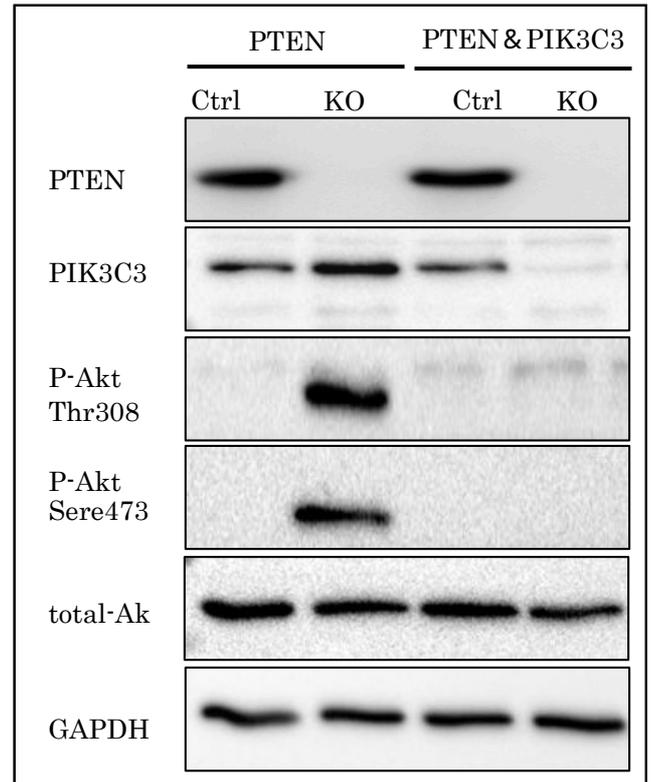


Fig.2: PTEN 欠損マウス胸腺細胞における Akt の異常活性化は PIK3C3 の欠損により回復する

今日まで *Pten* 欠損による発がんは、PI(3,4,5)P₃ の蓄積により惹起される Akt の活性化に帰結されてきたが、本知見により Akt の活性化には PI(3,4,5)P₃ の蓄積と共に *Pik3c3* あるいは PI3P も必要である可能性が示唆された。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 1 件)

浅沼研. *Pten* 欠損により発症する T 細胞性リンパ腫の抑制. 第 2 回修飾シグナル

病若手ワークショップ. 2013年10月22
日, 森秋旅館(群馬県渋川市).

()

研究者番号:

[図書](計 0件)

(3)連携研究者

()

[産業財産権]

出願状況(計 0件)

研究者番号:

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

浅沼 研 (Asanuma Ken)

研究機関: 秋田大学

所属部局: 医学(系)研究科(研究院)

職名: 技術職員

研究者番号: 50710125

(2)研究分担者