

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 10 日現在

機関番号：14301

研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間：2010～2014

課題番号：22123005

研究課題名（和文）細胞表面分子の分解制御と神経発生

研究課題名（英文）Regulation of pericellular proteolysis and neural development

研究代表者

野田 亮（Noda, Makoto）

京都大学・医学（系）研究科（研究院）・教授

研究者番号：30146708

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 101,500,000 円

研究成果の概要（和文）：膜アンカー型プロテアーゼ制御因子RECKが脳発生および細胞挙動に与える影響をin vivo、in vitroの実験系を用いて調べた。in vivoでは、血管内皮選択的Reck欠損が脳新皮質構築の重篤な異常を伴う胎生後期致死形質をもたらすこと、神経前駆細胞選択的Reck欠損マウスは一見正常に育つが、脳新皮質構築の乱れと不安・固執傾向、プレパルス阻害低下などの行動異常を示すことなどを見出した。in vitroでは、RECKがSKP2の発現抑制を介して細胞周期停止をもたらすこと、正常細胞では上皮間葉転換に伴い発現上昇すること、心臓線維芽細胞の遊走を低下させ線維症を抑制することなどを見出した。

研究成果の概要（英文）：We investigated the effects of RECK on brain development and cellular behaviors in multiple experimental systems in vivo and in vitro. In vivo, we found that selective inactivation of Reck in vascular endothelial cells in mice results in perinatal death with severe disruption of tissue structure in the cerebral neocortex. Mice with selective inactivation of Reck in neural precursor cells, on the other hand, were found to be viable and show no obvious phenotypes. Close investigations, however, revealed that these mice had altered neocortical cytoarchitecture and show interesting behavioral phenotypes, such as anxiety-like and perseverative behaviors and reduced pre-pulse inhibition. In vitro, RECK was found to suppress cell cycle progression by downregulating SKP2, to be induced after epithelial-mesenchymal transition in normal cells but not in cancer cells, and to suppress fibrosis by inhibiting migration of cardiac fibroblasts.

研究分野：分子腫瘍学

キーワード：組織細胞 神経科学 生体分子 脳・神経 発生・分化

1. 研究開始当初の背景

悪性形質抑制因子として発見された GPI アンカー型糖タンパク質 RECK は、種々の細胞外環境シグナルによる発現制御を受け、細胞表面近傍におけるタンパク質分解制御を通して細胞外マトリックスの維持と哺乳類の発生に必須の役割を果たすことが近年明らかとなってきた。中枢神経発生においては、Notch リガンドの shedding 阻害を通して、神経前駆細胞の増殖と分化のタイミング制御に関わることが見出された。しかし、Reck 欠損マウスが胎生 10.5 日前後に致死形質を表すため、発生後期や成体における RECK の役割解明は遅れていた。

2. 研究の目的

マウス大脳新皮質構築における Reck およびその標的であるプロテアーゼ群やそれらの基質(細胞外マトリックス、細胞表面分子等)の役割を明らかにする。

3. 研究の方法

我々が作製した Reck-flox、Reck 低発現、Reck-Cre マウスと、共同研究者より入手した Nestin-Cre、Tie2-Cre マウスなどを材料とし、組織化学的手法を主たる解析手段として in vivo での実験を進めた。また、培養細胞系での遺伝子操作により RECK の作用機構に洞察を加えた。

4. 研究成果

1) 培養細胞での実験によって、RECK が SKP2 の発現抑制を介して細胞周期停止をもたらすこと(論文)、上皮間葉転換の際には E-cadherin 低下に伴って RECK 発現が見られ、fibronectin 受容体増加と制御された細胞移動をもたらすこと(論文)を見出した。

2) Reck 発現が 30%程度にまで低下したマウスでは四肢形態異常が生ずること、またその原因が上皮間葉相互作用の破綻による Wnt7a 産生低下にある可能性を示した(論文)。

3) Tie2-Cre;Reck-flox 系による血管内皮選択的 Reck 欠損が誕生前後での個体死をもたらすことを見出した(投稿中)。

4) Nestin-Cre;Reck-flox 系による神経前駆細胞選択的 Reck 欠損マウスは、一見正常に成長するが、大脳新皮質構築および行動に興味深い異常(細胞数低下、層構造の乱れ、不安固執傾向、pre-pulse inhibition 低下など)が認められる(学会、未発表)。その原因究明は今後の重要な課題である。

5) 共同研究によって、心臓線維芽細胞の遊走制御に Reck が関与することを示した(論文、)。

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6件)

Siddesha JM, Valente AJ, Yoshida T, Sakamuri SS, Delafontaine P, Iba H, Noda

M, Chandrasekar B.

Docosahexaenoic acid reverses angiotensin II-induced RECK suppression and cardiac fibroblast migration.

Cellular Signaling 査読有

26 巻 2014 年 933-941 頁

10.1016/j.cellsig.2014.01.005

Siddesha JM, Valente AJ, Sakamuri SS, Gardner JD, Delafontaine P, Noda M, Chandrasekar B.

Acetylsalicylic acid inhibits

IL-18-induced cardiac fibroblast

migration through the induction of RECK.

J Cellular Physiology 査読有

229 巻 2014 年 845-855 頁

10.1002/jcp.24511

Yuki K, Yoshida Y, Inagaki R, Hiai H, Noda M

E-cadherin-downregulation and

RECK-upregulation are coupled in the

non-malignant epithelial cell line MCF10A but not in multiple carcinoma-derived cell lines

Scientific Reports 査読有

4 巻 2014 年 論文番号 4568 1-10 頁

10.1038/srep04568

Siddesha, J. M., Valente, A. J., Sakamuri, S. S., Yoshida, T., Gardner, J. D., Somanna, N., Takahashi, C., Noda, M., Chandrasekar, B*. Angiotensin II stimulates cardiac fibroblast migration via the differential regulation of matrixins and RECK.

J Mol Cell Cardiol 査読有

65 巻 2013 年 9-18 頁

10.1016/j.yjmcc.2013.09.015

Yamamoto M, Matsuzaki T, Takahashi R, Adachi E, Maeda Y, Yamaguchi S, Kitayama H, Echizenya M, Morioka Y, Alexander DB, Yagi T, Itohara S, Nakamura T, Akiyama H, Noda M

The transformation suppressor gene Reck is required for postaxial patterning in mouse forelimbs

Biology Open 査読有

1 巻 2012 年 458-466 頁

10.1242/bio.2012638

Yoshida Y, Ninomiya K, Hamada H, Noda M Involvement of the SKP2-p27(KIP1) pathway in suppression of cancer cell proliferation by RECK

Oncogene. 査読有

31 巻 2012 年 4128-4138 頁

onc2011570[pii]10.1038/onc.2011.570

〔学会発表〕(計13件)

Shi, G, Yoshida, Y, Yuki, Y, Nishimura, T, Kawada, Y, Kawashima, M, Iwaisako, K, Yoshikawa, Y, Toi, M, Noda, M. Characteristic methylation patterns of RECK CpG island in human breast cancer cells. 4th Global Cancer Genomics Consortium Symposium
2014年11月14~15日 京都大学

Makoto Noda

RECK: a tumor suppressor downregulated by multiple oncogenic pathways.
4th Global Cancer Genomics Consortium Symposium
2014年11月14~15日 京都大学

小川秀一郎, 松崎朋子, 野田 亮
マウス下垂体における RECK 発現細胞の生理的意義 第 87 回日本生化学会大会
2014年10月15~18日 国立京都国際会館

里見ちひろ, 松崎朋子, 野田 亮
MT1-MMP と Adamts10 の相互作用機序
第 87 回日本生化学会大会
2014年10月15~18日 国立京都国際会館

坂倉恵, 松崎朋子, 里見ちひろ, 野田亮
MT1-MMP と RECK の相互作用解析
第 87 回日本生化学会大会
2014年10月15~18日 国立京都国際会館

山口 幸代, 松崎 朋子, 鶴山 竜明, 高橋 玲, 武藤 誠, 野田 亮
マウス内在性 Reck はがん抑制機能をもつ
第 73 回 日本癌学会総会
2014年9月25~27日 パシフィコ横浜

施恭平, 吉田陽子, 結城加奈子, 吉川清次, 戸井雅和, 野田 亮
Characteristic methylation patterns of RECK CpG island in human breast cancer cells. 第 73 回 日本癌学会総会
2014年9月25~27日 パシフィコ横浜

Ebtehal Salman, Takao Miki, Shuichiro Ogawa, Mitsuharu Hattori, and Makoto Noda
Abnormal corticogenesis in mice with selective deficiency in the tumor suppressor gene Reck in Nestin-positive cells. 日本神経科学学会サテライトシンポジウム
2013年6月19日 京都府立医科大学

野田 亮
悪性転換抑制遺伝子の探索と応用.
第 17 回日本がん分指標的治療学会
2013年6月12~14日

国立京都国際会館

松崎朋子, 北山仁志, 野田 亮
Functional relationships among RECK, Adamts10, and MT1-MMP.
Gordon Research Conference (Matrix Metalloproteinases)
2013年5月19日~2013年5月24日
ルッカ(イタリア)

山本 真子, 松崎朋子, 野田亮
The transformation suppressor gene Reck is required for postaxial patterning in mouse forelimbs. Gordon Research Conference (Matrix Metalloproteinases)
2013年5月19~24日 ルッカ(イタリア)

清水正樹, 施 恭平, 野田 亮, 北山仁志
cDNA 発現クローニング法を用いた Ras 制御因子の探索. 第 35 回日本分子生物学会
2012年12月11~14日 福岡国際会議場

野田 亮
Roles of RECK, a membrane-anchored regulator of extracellular matrix remodeling, in carcinogenesis.
IFOM-Kyoto university Joint Symposium
2012年10月25~27日 ミラノ(イタリア)

〔図書〕(計1件)

野田 亮
Springer Cortical development: neural diversity and neocortical organization Chapter 7. The roles of RECK, a membrane-anchored regulator of peri-cellular proteolysis, in neural development.
2013年2015-2228

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

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1件)

名称: Screening method for anticancer drugs
発明者: 野田 亮, 村井竜也, 北山仁志, 吉田陽子
権利者: 国立大学法人京都大学
種類: 特許
番号: 13/812,715
出願年月日: 2013年11月3日

取得年月日：2015年4月2日

国内外の別：米国

〔その他〕

ホームページ

http://www.med.kyoto-u.ac.jp/organization-staff/research/doctoral_course/r-014/

6. 研究組織

(1) 研究代表者

野田 亮 (NODA MAKOTO)

京都大学・医学研究科・教授

研究者番号：30146708

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

松崎 朋子 (MATSUZAKI TOMOKO)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：50402855

今村 行雄 (IMAMURA YUKIO)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：90447954

(平成22年度)