

Direct activation of telomerase by EGF through Ets-mediated transactivation of TERT via MAP kinase signaling pathway

メタデータ	言語: eng 出版者: 公開日: 2017-10-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/15782

学位授与番号	甲第1574号
学位授与年月日	平成15年3月25日
氏名	毎田佳子
学位論文題目	Direct activation of telomerase by EGF through Ets-mediated transactivation of TERT via MAP kinase signaling pathway (上皮成長因子 EGF は MAP キナーゼ経路を介して TERT 遺伝子の発現を亢進しテロメレースを直接活性化する)
論文審査委員	主査 教授 多久和 陽 副査 教授 並木 幹夫 教授 山本 博

内容の要旨及び審査の結果の要旨

背景 テロメレー스는、多くの癌細胞のみならず再生増殖の盛んな一部の正常細胞で高い活性が認められ、細胞増殖とテロメレースとの関連が示唆されている。

目的 上皮成長因子(EGF)を用いて growth factor による telomerase 活性化メカニズムを明らかにする。

方法ならびに結果 ヒト EGF 受容体(EGFR)を強制発現させた NIH3T3 細胞および EGFR を高度に発現しているヒト外陰癌由来 A-431 細胞を用いて実験を行い、以下の結果を得た。

1. EGF 添加により NIH3T3 細胞は増殖促進、A-431 細胞は増殖抑制を受けた。しかし、EGF 添加 24 時間後、48 時間後のテロメレース活性は、細胞増殖の有無に関わらず、両細胞とも著明に亢進していた(増殖曲線、TRAP assay)。EGF 添加 6 時間後より TERT mRNA 発現量の亢進を認め、この作用は Cycloheximide による抑制を受けなかった(RT-PCR)。

以上より、EGF は他の蛋白発現を介さず直接 TERT の転写活性化を介してテロメレースを活性化することが示された。

2. EGF 添加による hTERT mRNA 発現亢進は、MEK inhibitor 添加により特異的に抑制された(RT-PCR)。

in vitro kinase assay では EGF 添加後早期に ERK が活性化することが示された。Reporter assay では EGF による hTERT core promoter (-181bp, pGL3-181)の活性化が認められたが、Core promoter 上の E box, GC box, initiator の各 mutant reporter では、EGF による promoter 活性化作用は抑制を受けなかった。Ets binding site (-22 に存在)に mutation を入れると、EGF による hTERT promoter 活性化作用は完全に抑制された。pGL3-32 に対する EGF の promoter 活性化作用は、effector として wild type ets2 発現ベクターを加えると更に増強し、dominant negative ets2 発現ベクターを加えると抑制を受けた。

以上より、EGF は MAP kinase シグナル伝達経路から転写因子 Ets を介し hTERT core promoter を活性化することが示された。

結論

増殖因子がシグナル伝達経路を介しテロメレースを直接活性化するメカニズムを初めて明らかにした。

以上、本論文は成長因子による telomerase 活性化メカニズムを明らかにした価値ある研究と評価された。