

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	増殖因子固定化マイクロ粒子を用いた細胞の局所シグナル伝達機構と化学走化性の研究
Title(English)	
著者(和文)	荒津史裕
Author(English)	Fumihiko Aratsu
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第9487号, 授与年月日:2014年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:田川 陽一,丸山 厚,近藤 科江,田口 英樹,森 俊明
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第9487号, Conferred date:2014/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	要約
Type(English)	Outline

論文要旨

専攻： 生体分子機能工学 専攻 氏名： 荒津 史裕

論文題目	増殖因子固定化マイクロ粒子を用いた 細胞の局所シグナル伝達機構と化学走化性の研究
------	---

要旨

本論文は、以下の6章より構成される。

第1章「序言」では、本論文の背景および目的を記した。液性因子である増殖因子やサイトカインなどの刺激の空間的不均一性により誘導される細胞の化学走化性について概説し、これまでに試みられてきた増殖因子やサイトカインの空間的な制御方法や、増殖因子の可視化と局所シグナルの解析手法について述べた。また、EGF刺激により誘導される化学走化性の分子機構やその解析手法についても概説し、本研究のアプローチについて述べた。

第2章「光反応性のEGFを用いたEGF固定化マイクロ粒子の作製」では、細胞に局所的なEGF刺激を誘起することを目的に、EGF固定化マイクロ粒子を作製した。粒子に固定化するEGFとして、EGFのカルボキシル末端側に光反応性のアジドフェニル基を有するprEGF(photo reactive EGF)を遺伝子工学的手法によって作製し、prEGFを表面にアミノ基を有するマイクロ粒子に対して光反応によって固定化した。

第3章「EGFレセプターの局所クラスター制御によるEGFレセプターの活性化機構の解析」では、EGFレセプター(EGFR)の高発現細胞株であるヒト扁平上皮癌(A431)細胞を用いて、EGF固定化マイクロ粒子に対するEGFRの活性化量や時間変化を解析した。EGF固定化マイクロ粒子による局所刺激によって粒子近傍でEGFRが集積したクラスターの形成が確認され、細胞全体へのEGFRの活性化が伝搬されることが示唆された。またその活性化量と時間変化はEGF固定化マイクロ粒子のサイズや数に依存することが分かり、粒子のサイズや個数によって局所EGF刺激の伝搬性が制御できることが示唆された。これらのことから、EGF固定化マイクロ粒子は、細胞の局所シグナル伝達機構の解析ツールとして有用であることが示された。

第4章「EGFの局所刺激による細胞の化学走化性評価モデルの構築」では、EGF固定化マイクロ粒子を用いて化学走化性評価モデルを構築した。通常、液性のEGF刺激に応答した下流シグナルの活性化は短時間で定常状態に戻る。一方、EGF固定化マイクロ粒子の場合では、粒子と細胞の接触は断続的に生じ、長期に渡ってEGF刺激が誘導されると期待される。そこで、EGF固定化マイクロ粒子を用いて空間的に不均一な刺激を誘導し、マウス線維芽(Swiss 3T3)細胞の運動性変化を長時間評価した。EGFの局所刺激によって細胞全体のERK1/2の活性化を伴った細胞の自発的な方向維持運動の誘導が確認された。そこで細胞密度などの条件を最適化して、細胞の化学走化性評価モデルを構築した。本モデルは、低倍率光学顕微鏡による広い視野で長期に渡ってEGF刺激の空間的不均一性に応答する細胞の走化性挙動の変化を定量評価でき、ウェスタンブロット等の生化学的手法によって細胞内のシグナル伝達も評価できることから、細胞の化学走化性の評価モデルとして有用であると考えられる。

第5章「EGFの局所刺激に応答した細胞の自発的な方向維持運動の分子機構の解析」では、第4章にて確立した細胞の方向維持運動解析による化学走化性評価モデルを用いて、細胞運動の極性に関与する各シグナル経路を阻害した際の、EGFの局所刺激に対する細胞の走化性挙動の変化を定量解析し、細胞内のシグナル伝達の変化を評価した。この結果から、EGFの局所刺激による細胞の自発的な方向維持運動の誘導・維持には、従来報告されていたPI3Kシグナル経路は関与せず、細胞骨格制御に関与する他のシグナル伝達経路が重要な役割を担うことが示唆された。

第6章「総括」では、本論文で得られた知見をまとめ、今後の展望について述べた。

本研究では、増殖因子固定化マイクロ粒子を作製し、細胞の局所シグナル伝達機構や化学走化性の新たな解析手法を確立した。本手法は、化学走化性における詳細な分子機構の解明を目指した研究への貢献が期待できる。