

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		癌ウイルスによる細胞形質転換における転写因子 NF-kappaB の役割			
研究テーマ (欧文) AZ		Integral role of NF-kappaB in tumor virus-induced cell transformation			
研究氏 代表名 者	カカナ CC	姓)カワウチ	名)ケイコ	研究期間 B	2008 ~ 2010 年
	漢字 CB	川内	敬子	報告年度 YR	2010 年
	ローマ字 CZ	Kawauchi	Keiko	研究機関名	日本医科大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		日本医科大学 老人病研究所 免疫部門・講師			
概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)					
<p>本研究では細胞の癌化における NF-κB の役割を解析した。</p> <p>まず最初に、p53 ノックアウトマウス由来胎児線維芽細胞を癌ウイルス・アデノウイルス E1A により形質転換 (トランスフォーム) させたときの NF-κB の役割について解析したところ、NF-κB の DNA 結合活性及び NF-κB の活性化キナーゼ IKK の活性が上昇していた。次に、NF-κB の活性化と形質転換との関係を調べるため、shRNA を用いて NF-κB 構成因子 p65 をノックダウンした。形質転換能を軟寒天培地コロニー形成法と比較したところ、対照群に比べ p65 をノックダウンした細胞ではコロニー形成はほとんど見られなかった。これまで、癌遺伝子 Ras の活性化型 (Ha-RasV12) によるトランスフォームには、NF-κB によるグルコーストランスポーター GLUT3 を介した解糖系の亢進が重要であることを明らかにしてきた。そこで E1A でトランスフォームした細胞においても同様に NF-κB が細胞の解糖系を制御しているか解析したところ、p65 のノックダウンによってグルコース消費量および GLUT3 の発現は抑制されることが示された。つまり、NF-κB は E1A の場合においても Ha-RasV12 と同様に、解糖系を制御することでトランスフォームを制御していると考えられた。</p> <p>次に、ラウス肉腫ウイルス v-Src によるトランスフォームにおける NF-κB の役割を解析するため、その細胞性ホモログ c-Src の活性型変異体 (c-SrcY530F) を用いて解析を行った。c-SrcY530F を用いてマウス線維芽細胞 NIH3T3 をトランスフォームし、p65 をノックダウンした場合の解糖系に対する影響を調べたところ、グルコース消費量は p65 をノックダウンすることで減少した。さらに興味深いことに、c-Src の基質である p130Cas の分解が p65 をノックダウンすることで促進されることが示された。p130Cas は癌の転移や運動を制御する分子であり、Src によるトランスフォームに必要な因子である。以上より、NF-κB の活性化が p130Cas の分解を抑制することで、Src によるトランスフォームを促進していることが予想され、NF-κB が細胞の癌化において多岐にわたって関わっていることが推測された。</p>					
キーワード FA	NF-κB	癌ウイルス	トランスフォーム		

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	

欧文概要 EZ

NF-κB is a critical regulator of innate and adaptive immune responses, and also plays a key role in tumor development. The tumor suppressor p53 is the most frequently mutated gene in human cancer cells. Recently, we reported that loss of p53 function enhances IKK-NF-κB signaling pathway, and which upregulates glucose metabolism that is important for Ha-RasV12-induced transformation. The enhanced aerobic glycolysis of Ha-RasV12-expressing cells is mediated by NF-κB induced glucose transporter 3 (GLUT3). However, it remains unclear whether NF-κB regulates the transformation induced by oncovirus.

In this study, we first examined whether NF-κB activation affects cell transformation in p53-deficient (*p53*<sup>-/-</sup>) mouse embryonic fibroblasts (MEFs) induced by adenovirus E1A (i.e. acquisition of a growth advantage in soft agar). *p53*<sup>-/-</sup> MEFs expressing E1A oncoviral protein could grow in soft agar, whereas it was hardly observed in *p53*<sup>-/-</sup> MEFs with p65-knockdown. It was shown that DNA binding activity of NF-κB and IKK kinase activity were enhanced in E1A-expressing MEFs, and the glucose consumption and GLUT3 expression were decreased by p65-knockdown, suggesting that NF-κB is required for E1A-induced transformation via glucose metabolism as well as Ha-RasV12-induced transformation.

Next, we examined whether NF-κB regulated transformation induced by Rous Sarcoma Virus-Transforming Protein pp60 (v-src), using constitutive active form of cellular homologue c-src (c-SrcY530F). The transformation of NIH3T3 mouse fibroblasts was induced by c-SrcY530F and the glucose consumption of the c-SrcY530F-expressing cells was reduced by p65-knockdown. Furthermore, we found that proteolysis of p130Cas, a c-Src substrate, was enhanced by p65-knockdown. p130Cas is a critical mediator of v-Src transformation and promotes migration, invasion, and cell survival. Taken together, NF-κB acts as a key regulator in many types of cell transformation and may regulate multiple cell functions such as glucose metabolism, migration, and invasion, in addition to cell survival and cell cycle control.