

30-0477

NGF による PC12 細胞の増殖停止機構

○野津 尚子¹, 野元 裕¹, 古川 昭栄¹ (¹岐阜薬大)

【目的】神経成長因子 (NGF) は 2 種類の受容体、TrkA と p75 に結合して神経細胞の分化誘導、生存維持作用を引き起こす。PC12 細胞は両受容体を発現し、NGF の高親和性結合部位を形成して、NGF に応答して増殖を停止し、交感神経様細胞へ分化すると考えられている。演者らは、変異 PC12 細胞を用いた解析から、PC12 細胞における増殖停止が p75 を介する Akt の活性化に依存することを明らかにした。そこで、この系における TrkA の関与について検討した。

【方法】PC12 細胞への NGF の添加時に Trk チロシンキナーゼ選択的阻害剤 K252a、PI3 キナーゼ阻害剤 Wortmannin、MEK 阻害剤 PD98059 を添加し、Akt や MAP キナーゼの活性化と細胞増殖を測定した。また、p75 と TrkA の cDNA を、両者を発現していない HEp2 細胞 (ヒト喉頭癌由来) に遺伝子導入し、単独の作用をウエスタンブロットティング法により観察した。

【結果および考察】K252a 添加により Akt と MAP キナーゼのリン酸化は消失し、NGF による PC12 細胞の増殖停止が阻害された。Wortmannin 処理では、Akt のリン酸化のみ消失し、増殖停止が見られなかった。MAP キナーゼの活性化を阻害する PD98059 処理では、増殖停止が観察されたことから、PC12 細胞の NGF による増殖停止が Akt の活性化を介することが確認され、さらに、TrkA の活性化が必要であることが明らかとなった。また、p75 中和抗体を処理して TrkA のみを活性化したときには、Akt のリン酸化レベルが低いことから、PC12 細胞の増殖停止には両受容体が必要であることが示された。HEp2 細胞での Akt のリン酸化は、TrkA の導入のみで観察されたことから、Akt のリン酸化に直接関与しているのは TrkA であり、p75 はそれを補強する働きを持つと考えられた。