

論文内容の要旨

申請者氏名 圓岡 真宏

c-Abl は、マウス白血病ウイルス v-Abl の原癌遺伝子として同定された非受容体型チロシンリン酸化酵素の一つであり、細胞の増殖、分化、ストレス応答など様々なプロセスにおいて重要な役割を担っている。ヒトにおける白血病の原因として知られる BCR-Abl は、*c-abl* 遺伝子と *bcr* 遺伝子の染色体相互転座により形成され、v-Abl と同様非常に強い酵素活性を有している。しかしながら、c-Abl の活性は厳密に制御されており、その活性化メカニズムについてはほとんど明らかにされていない。従って、c-Abl の酵素活性が如何に制御されているのかを理解することは、c-Abl によるシグナル伝達経路を明らかにするだけでなく、v-Abl、BCR-Abl による細胞のガン化機構を理解する上で非常に重要である。これまでの研究で我々は、アダプタータンパク質 Abl interactor-1 (Abi-1) が、酵素である c-Abl と、基質である Mammalian Enabled (Mena) の双方に作用することで、c-Abl による Mena のリン酸化を促進することを明らかにした。

本研究では、まず、このメカニズムが Mena のリン酸化に特有なものではなく、他の基質のリン酸化にも関与しうる普遍的なメカニズムであることを示した。Yeast Two-Hybrid 法により Abi-1 結合タンパク質をスクリーニングした結果、B 細胞の増殖と分化に重要であることが示唆されてきた B cell adaptor for PI3-Kinase (BCAP) が得られた。BCAP K. O. マウスは、c-Abl K. O. マウスと同様なリンパ球系の分化異常を示すこと、また、v-Abl は pre-B 細胞を選択的にガン化することが知られている。そこで、293T 細胞を用いた過剰発現系により解析した結果、BCAP は Abi-1 存在下で c-Abl によりリン酸化される基質であることが明らかになった。

次に、ガン遺伝子型 BCR-Abl による細胞のガン化における Abi-1 の役割について解析した。近年、BCR-Abl でガン化した白血病細胞内で、Mena のファミリー分子である Vasodilator stimulated phosphoprotein (VASP) のチロシンリン酸化が報告された。VASP はインテグリンを介した inside-out signaling に関与する分子であり、セリン・スレオニンキナーゼによりリン酸化されることで細胞骨格の形成や細胞の運動性を制御する分子の一つとして報告されている。しかし、BCR-Abl によるガン化において Abi-1 を介したシグナル伝達経路が深く関与することも近年報告されていることから、VASP も Abi-1 を介した Abl の基質である可能性が考えられた。そこで、これらの可能性を検討するため、まず過剰発現系を用いて VASP と Abi-1 との会合を解析したところ、VASP は Abi-1 結合タンパク質であること、VASP は c-Abl や BCR-Abl によりリン酸化される基質であることがわかった。さらに、VASP の 39 番目に位置するチロシンが c-Abl や BCR-Abl によるリン酸化部位であることを明らかにし、チロシンリン酸化型 VASP の細胞内局在を解析したところ、invadopodia/podosome 状の構造体を形成した。Y39F を発現する細胞株では野生型を発現する細胞と比較して顕著な接着能の減少が認められた。このことから VASP のチロシンリン酸化は、白血病細胞に認められる細胞の接着性に関与することが示された。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 圓岡 真宏

c-Abl は、マウス白血病ウイルス v-Abl の原癌遺伝子として同定された非受容体型チロシンリン酸化酵素の一つであり、細胞の増殖、分化、ストレス応答など様々なプロセスにおいて重要な役割を担っている。しかし、同様にがん遺伝子として知られている Src ファミリーに関してはそのチロシンキナーゼ活性制御機構の分子の実体が明らかになりつつあることに比較して、Abl のキナーゼ活性制御機構には解明されるべき多くの点が残されている。

申請者は、まず、Abl の基質として新たに BCAP を同定した。BCAP はリンパ系細胞の分化に関わることが知られている。そのリン酸化機構を解析することにより、アダプタータンパク質 Abl interactor-1 (Abi-1) が、酵素である c-Abl と、基質である BCAP の双方に作用することで、c-Abl による BCAP のリン酸化を促進することを明らかにした。次に、ガン遺伝子型 BCR-Abl による細胞のガン化における Abi-1 の役割について解析を行った。そこでも、新しい基質タンパク質として VASP を同定し、VASP は Abi-1 結合タンパク質であること、VASP は c-Abl や BCR-Abl によりリン酸化されることを見出した。VASP はインテグリンを介した inside-out signaling に関与する分子であり、セリン・スレオニンキナーゼによりリン酸化されることで細胞骨格の形成や細胞の運動性を制御する分子の一つとして報告されている。しかも、BCR-Abl によるガン化において Abi-1 を介したシグナル伝達経路が深く関与することも近年報告されていることから、白血病由来細胞を用いて、VASP のチロシンリン酸化の意義を解析した。その結果、VASP のチロシンリン酸化は、白血病細胞に認められる細胞の接着性の制御に関与することが示された。

申請者は、本研究により、チロシンリン酸化酵素 Abl の酵素活性がアダプタータンパク質 Abi-1 により制御されるというモデルが、c-Abl による基質のリン酸化経路において普遍的なメカニズムであることを、2つ目の新規基質 BCAP を同定することで示した。また、BCR-Abl による細胞のガン化経路においてリン酸化され、細胞の接着性に寄与すると考えられる3つ目の新規基質 VASP を、Abi-1 を介した Abl の基質として同定した。これら一連の研究結果は、アダプタータンパク質の介在により Abl の活性制御が制御されるという新しい概念を提唱し、c-Abl だけでなくガン遺伝子型 BCR-Abl によるシグナル伝達経路を理解する上でも重要な新たな活性制御メカニズムを明らかにした点で意義があると考えられる。

以上のように、本論文はがん化に深く関わるチロシンキナーゼ Abl の活性制御に関わる新しい機構をあきらかにしたもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。