

京都大学	博士 (医学)	氏 名	橘 充弘
論文題目	Ankyrin repeat domain 28 (ANKRD28), a novel binding partner of DOCK180, promotes cell migration by regulating focal adhesion formation. (DOCK180 の新規結合因子であるアンキリンリピートドメイン 28 (ANKRD28) は接着斑形成を制御することにより細胞遊走を促進する)		
(論文内容の要旨)			
細胞遊走は初期発生、炎症反応、創傷治癒、腫瘍浸潤・転移といった、生理的・病理的な生体反応に欠く事のできない重要な生命現象である。Rho ファミリー低分子量 GTP 結合蛋白質のひとつである Rac1 は、細胞質内のアクチン骨格の再構成や接着斑形成を介して、細胞遊走を制御している。DOCK180 は、アダプター蛋白質 Crk の SH3 領域と結合する蛋白質として同定されたが、後に Rac1 の GDP/GTP 交換因子として機能することが明らかにされた。DOCK180 は ELMO 等の蛋白質やリン脂質と結合し構造変化を起こすことがその活性化に必要である。この DOCK180 分子の機能を更に理解するために、質量分析法を用いて DOCK180 に結合する新たな蛋白質の同定を行なった。その結果、アンキリンリピートドメイン 28 (以下、ANKRD28) という 26 個のアンキリンリピートからなる蛋白質が同定された。ANKRD28 のメッセンジャーRNA は解析した全ての組織で発現していた。DOCK180 は N 末端に SH3 領域を有するが、ANKRD28 との結合にはこの SH3 領域が必要であり、SH3 領域を含む 1-357 アミノ酸領域が結合に十分であった。SH3 領域に結合する分子としては他に ELMO があるが、DOCK180 への結合をお互いに競合阻害することから、同様の結合様式をとることが推測された。 次に ANKRD28 の機能を知るために、RNA 干渉により内因性 ANKRD28 の発現を低下させたころ、DOCK180 の発現を低下させた場合と同様に、細胞の遊走速度が著しく低下し、また、Crk、paxillin、p130Cas の接着斑への局在が阻害された。Crk は p130Cas のチロシンリン酸化を認識し複合体を形成し接着斑へ局在させるが、DOCK180 の共発現によりこの複合体は安定なものとなり、p130Cas のリン酸化は亢進することが知られていた。そこで、Crk・p130Cas・DOCK180 に加えて ANKRD28 を共発現させると、p130Cas のリン酸化は更に亢進した。このリン酸化の増強には DOCK180 の Rac 活性化能、および SH3 領域が必要であることがわかった。四者を共発現させた細胞は多数の長い突起を有しており、リアルタイムの観察から、これらの突起は細胞が遊走する際に進行方向とは反対の後縁に相当し、細胞外基質から細胞が剥がれることが妨げられていることに起因すると考えられた。これに対して ELMO の共発現では、130Cas のリン酸化の亢進は誘導されず、細胞形態も異なり、全周性の葉状突起形成が認められた。 以上の結果より、DOCK180 は SH3 領域に結合する蛋白質によって機能が制御されており、ELMO と結合した場合は葉状突起の形成を導くのに対して、ANKRD28 の場合は Crk/p130Cas/ DOCK180 複合体の接着斑での安定化を導き、細胞遊走を制御していることが示唆された。本研究を契機として、細胞の運動・形態制御のさらなる理解につながるとともに、癌の浸潤・転移を抑制する新たな治療薬開発の一助になることが期待される。			

(論文審査の結果の要旨) 細胞遊走は初期発生、炎症反応、創傷治癒、腫瘍浸潤・転移等の生体反応に必須である。非定型グアニンヌクレオチド交換因子 DOCK180 は Crk、Cas、あるいは Paxillin を介して接着斑に集積し、低分子量 G 蛋白 Rac1 の活性化を介して、この細胞遊走を制御している。 DOCK180 の更なる機能解析のため、質量分析法により DOCK180 結合蛋白質を検索し、ANKRD28 が DOCK180 の SH3 領域に結合することを見出した。ANKRD28 の発現を siRNA を用いて抑制すると、細胞遊走速度が低下し、Crk、paxillin、Cas などの接着斑への集積が阻害された。Crk/Cas/DOCK180 と ANKRD28 の共発現は Cas のリン酸化を亢進させ、進行方向と反対側に多数の長い突起を誘導した。他方、ELMO の共発現は Cas のリン酸化亢進を誘導せず、全周性の葉状突起形成を誘導した。 以上より、DOCK180 は SH3 領域を介して、ELMO と結合すると葉状突起形成を導く一方、ANKRD28 に結合すると Crk/Cas/DOCK180 複合体の接着斑での安定化を導くことが示唆された。本研究は細胞運動・形態制御の更なる解明に寄与し、癌の浸潤・転移に対する新規治療薬開発の一助になると期待される。 したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認められる。 なお、本学位授与申請者は、平成 21 年 1 月 26 日実施の論文内容とそれに関連した諮問を受け、合格と認められたものである。			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			