

氏 名	みつ しま まさる 満 島 勝
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	農 博 第 1563 号
学位授与の日付	平 成 18 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	農 学 研 究 科 応 用 生 命 科 学 専 攻
学位論文題目	Analysis of growth factor signalings regulated by a focal adhesion protein vinexin (細胞接着斑裏打ちタンパク質ビネキシンによる細胞増殖シグナル伝達制御機構の解析)
論文調査委員	(主 査) 教 授 植 田 和 光 教 授 阪 井 康 能 教 授 西 岡 孝 明

論 文 内 容 の 要 旨

細胞接着は多細胞生物において必要不可欠の構成要素であると同時に、細胞の生存や分化、増殖など様々な生命現象を制御することが分かっている。細胞は通常、コラーゲンやフィブロネクチンなどの細胞外基質分子に接着しており、この“細胞-基質間接着”は細胞膜タンパク質であるインテグリンなどの接着分子により担われている。これらの接着分子は細胞内領域に酵素活性を有さないため、細胞接着の状態を感知し、シグナルを伝えるのはこれらの接着分子の細胞内領域に集積する複数のタンパク質によって担われている。このようにして伝えられたシグナルは細胞の増殖、生存、運動、分化といった様々な行動を制御しており、この制御システムの破綻は癌を初めとする多くの疾病に関わっていることが分かっている。しかしながら、細胞外からの多様なシグナルを如何にして特異的に細胞内に伝えるかは未だ不明な点が多い。

本研究では、細胞接着分子であるインテグリンやカドヘリンの裏打ちタンパク質群の一つであるビネキシンに着目し、細胞を接着状態および浮遊状態とした時の、増殖因子刺激に応答した MAP キナーゼ/ERK シグナル伝達系に与えるビネキシンの影響を解析した。また、ビネキシンはアクチン細胞骨格の制御に関与することが報告されており、その機能を解析するため、アクチン重合促進因子である WAVE2 に与えるビネキシンの影響について解析した。本論文の主な内容は以下のとおりである。

ERK2 の活性化は細胞増殖にとって重要な遺伝子の発現を制御するが、この活性化は細胞の接着状態によって制御されていることがわかっている。また、足場非依存的な細胞増殖はがん細胞における大きな特徴のひとつである。したがって、その制御メカニズムの解明は癌治療に有益であると考えられる。第 1 章では、細胞を接着状態と非接着状態とした時の ERK2 の活性化に与えるビネキシンの影響について検討した。正常繊維芽細胞である NIH3T3 細胞にビネキシンを導入し、接着状態、非接着状態で EGF 刺激をすると、ビネキシンの発現により足場非依存的に ERK2 が活性化することを明らかにした。この足場非依存的な活性化は、ビネキシンの ERK2 と直接結合し、その活性状態を安定化させることで起こることを明らかにした。さらに、活性化した ERK2 がビネキシンの 189 番目のセリン残基を直接リン酸化することを明らかにした。以上の結果は、ビネキシンの ERK2 が相互に制御し合っていることを示唆するものであり、ERK2 による細胞増殖や細胞運動などの制御にビネキシンの関与していることを示している。本研究において明らかとなったビネキシンの ERK2 の相互制御がそれらの制御機構の一端の解明につながることを期待できる。

第 2 章では細胞増殖因子シグナル伝達系における、ビネキシンのアダプタータンパク質としての役割を検討した。Cos7 細胞にビネキシンを発現させると、EGF 刺激に応答した EGF 受容体の活性化がより長く持続されることを見出した。この持続効果はビネキシンの N 末端側と C 末端側の 2 つの SH3 ドメインが必要であること、更に細胞膜における EGF 受容体の活性状態が特異的に持続されていることを明らかにした。逆に、ビネキシンの発現抑制により細胞膜上の EGF 受容体のリン酸化が減少することを明らかにした。また、この EGF 受容体の活性化持続効果には EGF 受容体自身のキナーゼ活性が重要なことから、ビネキシンの“細胞膜上での EGF 受容体活性化の側方拡散 (lateral propagation)”という現象に関

わることを示唆している。EGF 受容体はそのファミリーを含め、過剰発現や恒常的活性化が様々な癌細胞において報告されている。ビネキシンによる EGF 受容体の制御機構の解明が、癌細胞における EGF 受容体制御機構の解明の一端を担うことが期待できる。

ビネキシンはこれまでに細胞運動に関与することが示唆されている。第3章では細胞運動制御に密接に関与するアクチン重合促進因子である WASP ファミリータンパク質とビネキシンとの関係について検討を行った。その結果、ビネキシンが N-WASP, WAVE1/2 と相互作用することを見出した。さらに、各分子とビネキシンの相互作用部位を同定した。また、ビネキシンは相互作用依存的に WAVE2 のリン酸化を促進することを明らかにした。さらに、ビネキシンは相互作用依存的に WAVE2 を安定化すること、この安定化には PKA の活性が必要であり、ビネキシンは PKA の活性を通してプロテアソーム依存的な WAVE2 の分解を阻害していることを明らかにした。

論文審査の結果の要旨

細胞接着は多細胞生物の生存にとって必要不可欠の条件であるばかりでなく、様々な生理現象を規定する因子である。細胞は細胞外からの様々なシグナルを受容し増殖、分化、細胞運動などの運命を決定するが、通常これらの運命決定は細胞が隣接する細胞同士、あるいは細胞外基質に接着した状態ではじめて可能となることがわかっている。しかしながら、その細胞接着（足場）依存性の分子制御メカニズムはいまだ不明な点が多い。本論文では、細胞増殖制御に関与する MAP キナーゼ/ERK2 の足場依存性制御に、細胞接着斑裏打ちタンパク質ビネキシンが関与することを明らかにしたものである。さらに、ビネキシンの新たな機能として、EGF 受容体のリン酸化制御、アクチン重合促進因子である WAVE2 の制御を明らかにした。評価すべき点は以下のとおりである。

1. 細胞接着斑裏打ちタンパク質ビネキシンが、細胞増殖制御因子である MAP キナーゼ/ERK2 の足場依存性制御に関与することを明らかにした。
2. ERK2 活性化の足場依存性制御メカニズムとして、上流キナーゼの活性が足場依存的に制御されているのみならず、ERK2 の不活性化因子であるフォスファターゼの活性が足場依存的に制御されていることを明らかにした。
3. ビネキシンは活性化 ERK2 と直接結合し、その脱リン酸化を抑制することで ERK2 活性化の足場依存性を制御していることを明らかにした。
4. ビネキシンは足場依存的な ERK2 の活性化に関与するばかりではなく、ビネキシン β の189番目のセリン残基が ERK2 によりリン酸化されることを明らかにした。すなわち、ビネキシンと ERK2 は相互に制御し合っていることを明らかにした。
5. ビネキシンは ERK2 の上流因子である EGF 受容体の細胞膜上での活性化状態を持続させることを明らかにした。
6. ビネキシンはアクチン重合促進因子である WASP ファミリータンパク質と相互作用し、WAVE2 のリン酸化およびその安定性を制御することを明らかにした。

以上のとおり、本論文は、細胞接着斑裏打ちタンパク質であるビネキシンが、細胞増殖の足場依存性制御において重要な役割を果たしていることを明らかにしたものであり、分子生物学、細胞生物学さらには基礎生理学に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成18年2月13日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。