

氏 名 八 木 良 平
 学位(専攻分野) 博 士 (医 学)
 学 位 記 番 号 医 博 第 2145 号
 学位授与の日付 平 成 11 年 5 月 24 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 医 学 研 究 科 分 子 医 学 系 専 攻
 学位論文題目 A WW domain-containing Yes-associated protein (YAP) is a novel transcriptional co-activator.
 (WW ドメインをもつ Yes-associated protein (YAP) の転写活性化機構に関する研究)

論文調査委員 (主 査)
 教 授 西 川 伸 一 教 授 内 山 卓 教 授 伊 藤 嘉 明

論 文 内 容 の 要 旨

急性骨髄性白血病・鎖骨頭蓋骨形成不全症等の疾患に関係し、二次造血・骨形成等の細胞分化に必須の転写因子、PEBP 2/CBF ファミリーの α サブユニットにおいては、脊椎動物以上で PY モチーフ (PPxY) と呼ばれる配列が完全に保存されている。申請者はこの PY モチーフが多くの転写因子 (c-Jun, AP-2, Egr-1, Egr-2, NF-E2 等) の、しかも転写活性化領域内に存在することに気付き、その転写活性化における役割に興味を持った。PY モチーフは WW ドメインと呼ばれる蛋白質モジュールにより特異的に認識されることが知られている。申請者は PEBP 2 の転写活性化における PY モチーフの役割について研究を行った。

まず、PY モチーフを含む PEBP 2 α B1 / AML 1 の転写活性化領域を GAL 4 の DNA 結合ドメインと融合させたもの (G-PY) を哺乳類細胞内で発現して調べたところ、この融合蛋白質は転写活性化能を持つことが判明した。またこの活性化 (以下、PY モチーフ活性と称する) は、WW ドメインと結合できない PY モチーフ変異体では完全に阻害されたことから、PY モチーフそのものが転写活性化ドメインとして機能していることが分かった。次にこの PY モチーフに結合する因子を PY モチーフ活性のある細胞からスクリーニングしたところ、WW ドメインを持つ既知の蛋白質である Yes-associated protein (YAP) を得た。この蛋白質は癌遺伝子産物 c-Yes の SH 3 ドメインと結合する蛋白質として同定されていた。YAP は他の癌遺伝子産物 c-Src, Crk と *in vitro* で結合することも知られているが、この蛋白質がどのような機能を担っているのか不明であった。申請者は YAP の機能解析を行い、以下に示す結果により、YAP が PEBP 2 の PY モチーフ活性を担う転写のコアクチベーターであることを証明した。1) 内在性の YAP の発現と PY モチーフ活性には相関があった。2) YAP は核と細胞質の両方に存在した。3) YAP は哺乳類の全ての PEBP 2 α サブユニットと WW ドメイン-PY モチーフを介して結合した。4) YAP には強い転写活性化ドメインが存在した。5) 細胞内に導入して発現させた YAP は、G-PY および全ての哺乳類 PEBP 2 α サブユニットによる転写を WW ドメイン-PY モチーフ間の結合を介して活性化した。6) 転写活性化領域を除いたドミナントネガティブ YAP は、PEBP 2 α A に依存したオステオカルシンプロモーターの活性を阻害した。すなわち、内在性の YAP が PEBP 2 α A による転写活性化の少なくとも一部を担っていることが明らかとなった。

YAP はターゲットとなる転写因子を蛋白質モジュールである WW ドメインにより認識する新しいタイプのコアクチベーターであり、PY モチーフを有する複数の転写因子に働きかけていることが予想される。WW ドメインや PY モチーフが種々のサイトカイン受容体、転写因子、細胞周期制御因子、蛋白質分解に関与する因子等に広く存在することは、これらの分子間を連結する細胞内シグナル伝達系の存在を示唆し今後詳細に解析されるべきものと思われる。

論文審査の結果の要旨

プロトがん遺伝子産物 c-Yes や c-Src に結合する YAP (Yes associated protein) は WW ドメインと呼ばれるドメインを持つが、これは PY モチーフと呼ばれる配列を認識してたんぱく質の相互作用を媒介する。転写因子 PEBP 2 の α サブユニットの転写活性化ドメイン内に PY モチーフが存在するが、申請者等は YAP がこの PY モチーフを特異的に認識することを見出した。YAP の転写制御における役割を検討するため YAP の C 端側を酵母の転写因子 GAL 4 の DNA 結合ドメインに融合させたところ GAL 4 の DNA 結合部位依存性に強い転写活性化能が観察された。従って YAP は転写因子の活性化ドメインに結合し、強い転写活性化能を賦与する転写のコ・アクチベーターであることが明らかになった。c-Jun や NFE 2, C/EBP α 等も PY モチーフを持つので一群の転写因子が YAP を介して転写を活性化すること、及び YAP が c-Yes や c-Src に結合することから YAP が細胞表面から転写因子へシグナルを伝達する可能性が示唆された。

以上の研究は転写制御機構の一端を明らかにし、シグナル伝達機構や発がん機構等の解明に寄与するところが多い。

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る。

なお、本学位授与申請者は、平成 11 年 4 月 26 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。