

ERK経路の異常活性化により発現誘導される機能未知遺伝子の同定および機能解析

著者	高木 祐輔
学位授与年月日	2017-06-27
URL	http://doi.org/10.15083/00077489

審査の結果の要旨

氏名 高木 祐輔

Extracellular signal-Regulated Kinase (ERK) 経路は、主に増殖因子によって活性化され、細胞増殖や分化などを制御する細胞内シグナル伝達経路である。ERK 経路が過剰に活性化すると、発生異常や発癌が誘導されることが知られており、その活性阻害は癌の抑制に効果的であることから、ERK 経路に関する知見は、新規治療・診断への応用が期待できる。学位申請者は、ERK 経路の異常活性化により発現が亢進する新規遺伝子 (EIG1 と命名) を同定し、その生理機能および癌病態との関連について研究を行った。

本論文は、序論、実験方法・材料、結果、考察で構成されており、結果では、主に EIG1 の発現制御機構、細胞内局在、生理機能についての解析結果が詳述されている。それらの内容を以下に述べる。

ERK 経路の異常な活性化が、発癌や癌の病態形成と密接に関連することはよく知られているが、ERK がどのような分子を介して最終的に発癌を導くのか、その分子機構に関しては未だ不明な点が数多く残されている。学位申請者は、孤発性癌で発見された高活性型 MEK 変異体によって発現変動する遺伝子を網羅的に解析し、機能未知遺伝子である EIG1 を同定することに成功した。

そこでまず、EIG1 の発現解析を行い、EIG1 が MEK 変異体だけでなく、活性型 Ras や Raf など、ERK 経路の恒常的な活性化を誘導する様々な癌遺伝子によっても発現亢進することを明らかにした。また、ERK 経路の異常活性化が高頻度で観察されるヒト臨床癌組織 (膵癌、肺癌、大腸癌など) を用いて、EIG1 が正常部と比較して癌部で特異的に高発現していることを示した。次に EIG1 の発現制御機構に関して解析を進め、EIG1 遺伝子のプロモーター領域を同定して、その活性化には ERK の基質として知られる転写因子 ELK1 が重要であることを明らかにした。細胞内局在に関しては、細胞分画、免疫蛍光染色等を行い、EIG1 が細胞質に限局する分子であることを明らかにした。

次に EIG1 の生理機能の解析を行い、まず EIG1 を細胞に強制発現させると細胞増殖や運動能が抑制されることを見出した。さらに、その分子機構を解明するために、共沈タンパク質の質量分析や酵母ツーハイブリッド法を用いた結合分子のスクリーニングなどを実施し、PP2A 複合体を同定した。さらに、A、B、C の 3 つのサブユニットで構成

される PP2A 複合体のうち、B サブユニットと直接結合することを明らかにし、複合体を安定化してその形成量を増加させることも見出した。また、EIG1 が Arp2/3 複合体の構成因子とも結合し、EIG1 の存在下で PP2A と Arp2/3 複合体の結合が亢進することを見出した。Arp2/3 複合体の構成分子は、特定の Thr 残基がリン酸化されることで活性化し、ラッフル膜の形成を促進することが報告されている。実際に、EIG1 発現細胞では、Arp2/3 複合体構成分子の Thr 残基のリン酸化とラッフル膜の形成が抑制されていることを明らかにした。

以上、学位申請者は、ERK 経路の異常活性化により発現が亢進する機能未知遺伝子 EIG1 を同定して、その詳細な解析を実施し、EIG1 が ERK 経路の異常活性化により発現誘導されて、PP2A 複合体の形成を促進させる機能を持つこと、さらに PP2A と Arp2/3 複合体との結合を亢進させて Arp2/3 複合体構成分子の Thr 残基のリン酸化を減弱させることを明らかにした。また、EIG1 を細胞に強制発現させることにより、細胞増殖や Arp2/3 複合体が担う細胞運動を負に制御することを明らかにした。これらの結果から申請者は、EIG1 の発現誘導は、ERK 経路の異常活性化に伴う細胞増殖や運動能の亢進を抑制するネガティブ・フィードバック機構であり、生体の恒常性維持を担う新たな分子機構であると結論づけた。これらの知見は、今後、癌に対する新たな診断・治療法開発への応用が期待できる重要な成果であると考えられる。以上により、博士（医科学）の学位を授与できると認める。

以上 1700 字