

論文審査の結果の要旨

氏名 大森 一二

本論文は3章からなり、第一章はクラスリン重鎖のp53依存的転写における必要性、第二章はp53転写活性化時におけるクラスリン重鎖の多量体化状態、第三章はがんにおけるクラスリン重鎖の変異について記述されている。p53がん抑制蛋白質は、人のがんの約50%で変異が認められ、がん抑制において中心的な役割を担う蛋白質である。この蛋白質は正常細胞では不活性化の状態に保たれているが、DNA損傷やストレスの負荷により活性化される。この活性型p53は転写因子として働き、1) 細胞周期を停止させDNAの修復を行う、あるいは2) 修復不能な細胞をアポトーシスに導き排除するための、さまざまな分子の発現誘導を行う。p53の補助分子としてp300ヒストンアセチル化酵素が知られているが、本研究では、このp300がp53の機能をどのように制御しているのかを、分子レベルで理解することを目的とした。

1. クラスリン重鎖のp53依存的転写における必要性

p53の変異の中で、Ser47がPheに変異をした患者が報告されている。この変異p53蛋白質は転写能が恒常的に活性されているものと予想されていた。まずこの変異p53蛋白質に結合する蛋白質を同定することを試み、クラスリン重鎖を明らかにした。この結合は変異p53蛋白質だけではなく、正常のp53にも結合していることが明らかになり、生理的な活性化制御メカニズムが明らかになるものと予想された。クラスリン重鎖を過剰発現させるとp53依存的転写反応が促進されたこと、逆にクラスリン重鎖の発現を抑制するとp53の転写活性も抑制されたことから、クラスリン重鎖はp53活性化の鍵となる分子であると予想された。一方、p53の補助分子であるp300との関連についても検討し、クラスリン重鎖と同時にp300を細胞内に過剰発現させると、p53依存的な転写が顕著に増加した。さらに、クラスリン重鎖はp300とも結合することが明らかになったことから、クラスリン重鎖はp53とp300との相互作用を取り持つscaffold蛋白質ではないかと予想された。

2. p53転写活性化時におけるクラスリン重鎖の多量体化状態

クラスリン重鎖と相互作用するp53の結合部位の同定を行い、N末端領域1-101アミノ酸残基であることを明らかにした。一方、三量体形成に関わるクラスリンリピートを欠損したクラスリン重鎖でもp53の活性化は起こること、さらにさまざまな欠失を行ったクラスリン重鎖を作製しp53結合部位の同定を行ったところ、クラスリン重鎖の中間に位置するクラスリンリピートドメイン833-1675アミノ酸残基がp53との結合に必須であることを明らかにした。この833-1675アミノ酸残基に相当する部位がp300と一緒に共沈降することから、この部位にp53だけでなくp300も結合することが明らかになった。p53の転写活性を指標に、クラスリン重鎖833-1675アミノ酸残基の部位とp300の効果について検討を行ったところ、p53の転写活性は両者の添加により強く増強され、p53とp300は異なるクラスリン重鎖上に結合していることが示された。

3. がんにおけるクラスリン重鎖の変異

クラスリン重鎖が本来のp53がん抑制蛋白質の転写活性化の重要なscaffold蛋白質であることが示されたことから、クラスリン重鎖の変異ががん化の原因となる症例が存在すると予想される。そこで、がんにおけるクラスリン重鎖の遺伝子異常について調べた。その結果、クラスリン重鎖遺伝子がanaplastic lymphoma kinase (ALK) 遺伝子にインフレームで融合した転座をもつB細胞リンホーマと、転写因子TFE3遺伝子と融合した転座をもつもう1つは腎細胞がんが存在した。これら二種類の転座で作られるキメラ分子が、p53分子の転写活性可能に及ぼす影響についてp53の転写活性能を指標とした実験結果では、前者は活性を上昇させたのに対し、後者は逆に抑制する結果が得られた。

以上、本研究では、従来細胞内輸送に関わる分子として知られていたクラスリン重鎖が、がん抑制蛋白質 p53 の scaffold 蛋白質として機能し、p53 の転写活性可能を促進していることを、詳細な分子構造を考察しながら検討し、明らかにしたものである。本研究の契機になった p53 蛋白質の変異 (Ser47Phe) の発見と性質に関しては既知の報告であるが、その後の p53 新規結合蛋白質であるクラスリン重鎖の発見から、その詳細な結合部位の同定、p300 との結合、さらには p53 と p300 の相互作用を助けることによる介在機能など、一部に関しては既に GENES & DEVELOPMENT 誌に公表されており、論文提出者の寄与が十分であると判断される。また今後公表予定の部分についても論文提出者が単独で行った独創的な研究であり、また、がん研究における重要な知見を提言するものである。従って、博士 (生命科学) の学位を授与するに値するものと判断される。