

[課程—2]

審査の結果の要旨

氏名 星野 大輔

本研究は、細胞運動や接着、形態形成等に重要な役割を果たすと考えられている RhoA の新規活性化調節タンパク質を同定、機能解析したものであり、下記の結果を得ている。

- 1、ゼラチンザイモグラフィにより P27RF-Rho タンパク質量依存的に MMP9 タンパク質量を増加させることが示唆された。さらに、ルシフェラーゼ融合ヒト MMP9 プロモーターコンストラクトを用いてレポーターアッセイを行ったところ、P27RF-Rho は転写レベルで MMP9 を調節することが示された。
- 2、P27RF-Rho を発現させると cdc42、Rac の活性化には影響を及ぼさないが RhoA 特異的に活性化が亢進した。P27RF-Rho は既存のドメインやモチーフを持たないため、間接的に RhoA 活性化を制御していることが考えられたため、RhoA と GEFs の結合を免疫沈降によって調べた。P27RF-Rho タンパク質量依存的に RhoA と GEFs 複合体が増加していたことを明らかにした。これらの結果から、P27RF-Rho は RhoA-GEFs 結合を増加させることによって RhoA 特異的に活性化を促進することが示された。
- 3、RhoA 活性化抑制タンパク質である RhoGDI 及び p27^{kip1} との結合を調べたところ、P27RF-Rho は p27^{kip1} と直接結合することが明らかになった。さらに、P27RF-Rho ノックダウン細胞株では RhoA と p27^{kip1} 複合体が増加することを見出した。さらに p27^{kip1} ノックダウン細胞では P27RF-Rho による RhoA 活性化が起こらなかったことから、P27RF-Rho は p27^{kip1} による RhoA 抑制経路を介して RhoA 活性化を行っていることが示された。
- 4、内在性 P27RF-Rho は浸潤突起に局在し、そこで RhoA 活性化が起こっていることを免疫染色で明らかにした。さらに、MT1-MMP と共局在すること、結合することを示した。P27RF-Rho は MT1-MMP の近傍で RhoA 活性化の場を用意することで、アクチンストレスファイバーによる細胞極性を制御している可能性が示唆された。
- 5、P27RF-Rho のマトリゲル浸潤への影響を調べたところ、P27RF-Rho を発現させるとマトリゲル浸潤能が増加し、ROCK 阻害剤を加えることで P27RF-Rho 依存的浸潤亢進が抑制されたことを示した。

以上、本論文は P27RF-Rho が p27^{kip1} と直接結合することで、p27^{kip1} から RhoA を解離する。結果、GEFs は RhoA へ結合可能となり、RhoA 活性化が増加する。本研究はこれまで未知に等しかった、p27^{kip1} による RhoA 活性化抑制経路を解明し、学位の授与に値するものと考えられる。