

論文審査の結果の要旨

氏名 相良将樹

本論文は癌抑制遺伝子 APC に結合する新規グアニンヌクレオチド交換因子 Asef2 の機能解析に関する研究であり、四つの章からなる。

第一章は全体の内容の序論が述べられており、癌抑制遺伝子 APC についての詳細な解説である。APC は、家族性腺腫性ポリポシスの原因遺伝子として単離され、散发性の大腸癌においても高頻度で変異を起こしており、大腸癌発症の初期段階で重要な役割を果たしていると考えられている。APC は低分子量 G 蛋白質 Rac1 および Cdc42 に対するグアニンヌクレオチド交換因子 (GEF) である Asef を活性化し、アクチン細胞骨格系の再構成を誘導することにより細胞運動を制御している。最近 Asef と約 60% の相同性を持つ新規の GEF を見出され、Asef2 と名付けられた。本研究は Asef2 の機能を解析することで、APC の変異による大腸癌発症の分子機構の一端を明らかにすることを目的としている。

第二章ではグアニンヌクレオチド交換因子 Asef2 の分子レベルにおける機能解析の結果が述べられている。Asef2 は APC と *in vitro* および *in vivo* で結合することを示し、Asef2 の ABR/SH3 ドメインと APC のアルマジロリピートドメインが両者の結合に必要なことを明らかにした。さらに Asef2 は Rac1 および Cdc42 を活性化する能力があり、Asef2 の GEF 活性は、大腸癌細胞で発現している変異 APC との共発現により増強することを示した。Asef2 を強制発現するとラメリポディアやフィロポディアの形成が誘導され、Asef2 は GEF 活性依存的に MDCK 細胞の運動能を活性化することを明らかにした。さらに、変異 APC を発現している大腸癌細胞株 SW480 において、Asef2 の発現を抑制すると、細胞運動能が低下することを示した。これらの結果から、Asef 同様に Asef2 も変異 APC を発現している大腸癌細胞の異常な運動能の亢進に重要な役

割を果たしていることを明らかにした。

第三章では Asef2 結合蛋白質の探索を行い、同定された F-アクチン結合蛋白質 Neurabin2 および APC、Asef2 の HGF シグナル伝達経路における機能解析の結果について述べられている。Asef2 結合蛋白質の探索した結果、Neurabin2 を同定した。また、Asef2 と Neurabin2 は *in vitro* および *in vivo* で結合し、Neurabin2 のカルボキシル末端部位と Asef2 のカルボキシル末端部位が両者の結合に必要なことを明らかにした。また、APC、Asef2、Neurabin2 は HGF 刺激依存的にラメリポディアやラッフル膜に共局在し、HGF 刺激依存的な細胞運動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。また、Neurabin2 は Asef2 の GEF 活性の制御には関与していないが、Asef2 依存的なアクチン細胞骨格系の制御に重要な役割を果たしていることを明らかにした。以上の結果から、Asef2 の結合蛋白質の同定と、Asef2、Neurabin2、APC による細胞運動制御の分子メカニズムを初めて明らかにしている。

第四章は、本研究および関連する研究から得られた結果に基づく総合討論である。本研究では Asef2 の分子レベルでの機能明らかにし、また Asef2 結合蛋白質の同定し、HGF シグナル伝達経路における APC、Asef2、Neurabin2 の機能を明らかにしており、これまで知られていなかった癌抑制遺伝子 APC による新たな細胞運動制御のメカニズムの一面を明らかにした。本研究により APC の変異による大腸癌発症の分子機構における新たな一面が明らかになり、極めて重要な研究であると言える。

なお、本研究の第二章は川崎善博、柴田葉子、白水美香子、横山茂之、秋山徹との共同研究であり、第三章は川崎善博、家村俊一郎、夏目徹、高井義美、秋山徹との共同研究であるが、いずれも論文提出者が主体となって分析および検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。