

## 論文の内容の要旨

論文題目 非受容体型チロシンフォスファターゼ SHP-2 によるドッキング  
蛋白 Cas-L のチロシンリン酸化抑制および細胞遊走の制御  
指導教員 森本幾夫教授  
東京大学大学院医学系研究科  
平成 17 年 4 月入学  
医学博士課程  
内科学専攻  
氏名 姚 皇治

Crk associated substrate lymphocyte type (Cas-L)は Cas ファミリーに属し、細胞遊走・浸潤、アポトーシス、細胞周期の制御に関与する 105kDa のドッキング蛋白である。細胞遊走の制御においては、Cas-L は接着斑に局在し、増殖因子受容体やインテグリンへの刺激を受けて focal adhesion kinase (FAK), Src などのキナーゼにチロシンリン酸化され、Crk, Nck といったエフェクター分子のリクルートメントから各種の GTPase を活性化することで遊走を促進すると考えられているが、チロシンリン酸化レベルの制御におけるフォスファターゼの関与は不明であった。1996 年 Minegishi らが Cas-L と非受容体型チロシンフォスファターゼである SH2 domain containing protein tyrosine phosphatase (SHP-2)との相互作用を示唆する報告をしており、私は SHP-2 に着目して Cas-L に依存する細胞遊走の制御を調べる目的で研究を行った。実験にはヒト肺癌細胞である A549 を用い、Cas-L をトランスフェクションして Cas-L が高発現する悪性腫瘍細胞の状態をある程度 mimic することを意図した。

実験結果としては、過剰発現した SHP-2 はフォスファターゼ活性依存的に Cas-L による細胞遊走を負に制御した。外因性の SHP-2 は細胞内で Cas-L のチロシンリン酸化レベルを制御し、また SHP-2 の GST 融合蛋白を用いた phosphatase assay において免疫沈降した Cas-L のチロシン脱リン酸化を確認した。また、293T 細胞における免疫沈降実験では、チロシンリン酸化依存性に Cas-L と SHP-2 の substrate trapping mutant が結合し、細胞内で両者が複合体を形成することが示唆された。また、deletion mutant を用いた免疫沈降実験では、Cas-L の基質ドメイン、SHP-2 の 2 つの SH2 ドメインが相互作用に重要であることが明らかになった。

この研究により、SHP-2 は Cas-L のチロシンリン酸化を抑制して細胞遊走を負に制御することが示された。この結果は SHP-2 の多様な生物学的機能の一端を明らかにし、また Cas-L が主要な役割を果たす悪性腫瘍などの病態において、その進展制御機構のより深い理解から臨床応用につながるものである。