

論文内容の要旨

申請者氏名 金井 賢一

Mafファミリー (MafA, MafB, c-Mafなど) は、bZip型の転写活性化因子群であり、癌遺伝子産物である。Mafファミリーの過剰発現は、ニワトリの胚性繊維芽細胞 (CEF: chicken embryonic fibroblast) のトランスフォーメーションを誘導する。またヒトにおいては、染色体転座を伴うMafタンパク質の過剰発現が、多発性骨髄腫などの悪性リンパ腫の原因となる。MafによるCEFのトランスフォーメーションには、転写活性化能が必須であることが示されているが、発癌に至る分子機構には不明な部分が多い。本論文では、Mafタンパク質の翻訳後修飾に注目し、その分子機能と発癌との関連について以下の知見を得た。

まず、MafA、MafB、c-Mafの転写活性化領域内に保存されたリジン残基に、ユビキチン様タンパク質であるSUMO (Small Ubiquitin-like Modifier) が共有結合することを見いだした。SUMO化されない変異体MafA (K32R) などを作製することによって、MafAタンパク質のSUMO化は、その転写活性および発癌活性を負に制御することを明らかにした。一方で、MafファミリーはN末端領域内の5つのセリン/スレオニン残基がGlycogen Synthase Kinase 3 (GSK3)などのキナーゼによりリン酸化されることがわかっていたので、リン酸化とSUMO化の関係を調べたところ、リン酸化を受けない変異体MafA (5A) はより高い割合でSUMO化されることを見いだした。さらに一連の変異体を用いた解析から、MafAのリン酸化は転写活性に影響を与えないが、低密度培養下での増殖や足場非依存性増殖などのトランスフォーム活性には必須であることが明らかになった。

さらに、MafAの野生型あるいは5A変異体を発現する細胞の細胞周期の解析などを行い、MafAは、リン酸化されない状態では細胞周期をG1で停止させ、この活性はMafAがリン酸化を受けることによって部分的に解除されることがわかった。そこで、リン酸化依存的にMafAに結合するタンパク質を探索し、Fbxw7を候補として同定した。Fbxw7はSCF複合体型のユビキチン・リガーゼの基質認識サブユニットであり、c-Mycなどの発癌タンパク質の分解を促進する癌抑制タンパク質である。Fbxw7は、MafBの分解を促進し、そのトランスフォーム活性を抑制した。一方で、MafAに対してはほとんど分解促進活性を示さず、むしろ逆にMafAによってその機能が阻害されることがわかった。そして一連の発現阻害実験などから、この阻害は、MafAの増殖抑制活性がリン酸化によって解除される機構の一部であることを明らかにした。

以上の解析から、転写因子であるMafは、転写活性とは別個の多様な機能も持ち、細胞周期を正にも負にも制御しうることを明らかにした。またこれらの活性はリン酸化をはじめとする多様な修飾によって調節されるという発癌過程における新規分子機構を解明した。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 金井 賢一

癌遺伝子産物であるMafファミリーは、ヒトの難知性血液癌である多発性骨髄腫の原因のひとつであり、実験的にはニワトリ胚性繊維芽細胞(CEF: chicken embryonic fibroblast)のトランスフォーメーションを誘導する。一方で、水晶体(c-Maf)やマクロファージ(MafB)などの分化制御因子でもあり、特に膵島β細胞に特異的に発現するMafAは、β細胞の分化・成熟と機能維持に必須で、再生医療による糖尿病治療への応用が期待されている。しかしながら、Mafファミリータンパク質による発癌には、遺伝子産物としての変異は必要ではないことから、相反すると考えられる分化誘導能と発癌能がどのように発揮されるのかは明らかになっておらず、癌の治療法開発と再生医療の安全性確保の両面から、その分子機構の解明が望まれる。

本論文では、Mafタンパク質の翻訳後修飾に着目して、分子機能との関連性を解析した。Mafタンパク質は、GSK3などによって多重にリン酸化されることが分かっていたが、Mafタンパク質が、共通するリジン残基にSUMO化修飾を受けることを発見した。MafファミリーはbZip型の転写活性化因子であることから、リン酸化およびSUMO化と転写活性との関連を調べ、SUMO化が転写活性化能を抑制すること、リン酸化は転写活性には影響を与えないことを明らかにした。さらに、これらの修飾を受けない一連の変異体を作製し、トランスフォーム活性との関連性を解析した。転写活性はトランスフォーム活性には必須である一方で、リン酸化は転写活性とは関係ない機能を介してトランスフォーム活性に必須であることを見いだした。この分子機構の追究を行い、以下のような一連の知見を得た。すなわち、1) Mafタンパク質は、リン酸化を受けない状態では、細胞増殖を抑制する活性を持ち、これは転写活性とは独立した新規の機能である。2) Mafはリン酸化されることによって、この増殖抑制活性が解除され、このことがトランスフォーメーションには必須である。3) この抑制解除の分子機構として、癌抑制タンパク質であり、c-Mycなどの発癌タンパク質の分解を促進するユビキチン・リガーゼの基質認識サブユニットであるFbxw7 α タンパク質に、リン酸化型Mafが結合して活性を阻害することを見いだした。これらの結果は、Mafタンパク質が細胞周期を正・負に制御する多機能タンパク質であり、多様な翻訳後修飾によってその機能が制御されていることを初めて明らかにしたものである。

以上のように、本論文は、発癌および細胞分化における新規な分子機構を明らかにしたもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士(バイオサイエンス)の学位論文として価値あるものと認めた。