

# 論文内容の要旨

申請者氏名 佐藤 みずほ

*c-abl* は、エイベルソン・マウス白血病ウイルスが保持する *v-abl* がん遺伝子の原がん遺伝子であり、その翻訳産物は非受容体型のチロシンリン酸化酵素である。活性化型 Abl (Bcr-Abl) は、ヒトの慢性骨髄性白血病の原因遺伝子産物であり、細胞のがん化においても重要な役割を果たす。*c-Abl* の酵素活性は、分子内相互作用により、閉じた構造をとることにより厳密に制御されていると考えられている。しかし、どのようなメカニズムで活性化されるかについては不明な点が多い。これに関して、私どもは、*c-Abl* のアダプター分子 Abl interactor-1 (Abi-1) が、*c-Abl* と (Mena などの) 基質の双方に結合することで、*c-Abl* によるチロシンリン酸化を促進するというメカニズムを提唱している。本研究は、そのメカニズムをより深く理解する目的で、「*c-Abl* によるアダプター分子 Abi-1 を介した基質リン酸化反応機構」を詳細に解析するとともに、得られた知見に基づき、*c-Abl* の酵素制御の破綻によるがん発生機構を理解する基盤とすることを目指した。

まず、質量分析法により *c-Abl* による Abi-1 のチロシンリン酸化部位 (Y213, Y398) を同定した。2箇所チロシンをフェニルアラニンに置換した Abi-1 各種変異体を作製し、これらの部位が *c-Abl* によりリン酸化されることを確認した。さらに、①Abi-1 のチロシンリン酸化が *c-Abl* との結合および酵素活性に関与すること、②Abi-1 の SH3 ドメインと *c-Abl* のプロリンリッチ領域が相互の会合に必要であること、③*c-Abl* と Abi-1 の結合は Abi-1 のリン酸化に重要であることなどを明らかにした。

次に、Abi-1 のリン酸化が *c-Abl* の酵素活性におよぼす影響について解析し、Abi-1 のチロシンリン酸化により *c-Abl* の酵素活性が促進されること、リン酸化された Abi-1 は *c-Abl* による基質 Mena のチロシンリン酸化反応を促進することが分かった。つまり、アダプター分子 Abi-1 のリン酸化は *c-Abl* の酵素活性を活性化し、それにより基質となる分子のリン酸化が促進される機構を見出した。

さらに、以上の知見に基づき、Abi-1 のリン酸化が白血病細胞の接着に及ぼす影響についても解析した。その結果、チロシンリン酸化された Abi-1 が、白血病細胞に見られる細胞接着性に深く関与することが明らかとなった。

以上、本研究において、アダプター分子 Abi-1 上に新しいチロシンリン酸化部位を同定するとともに、そのリン酸化が *c-Abl* との会合、*c-Abl* による基質リン酸化反応制御、さらには白血病細胞の接着性などに関わっていることを明らかにした。

# 論文審査結果の要旨

申請者氏名 佐藤 みずほ

*c-abl*は、エイベルソン・マウス白血病ウイルスが保持する *v-abl* がん遺伝子の原がん遺伝子であり、その翻訳産物は非受容体型のチロシンリン酸化酵素である。活性化型 Abl (Bcr-Abl) は、ヒトの慢性骨髄性白血病の原因遺伝子産物であり、細胞のがんに重要な役割を果たすことが知られていることより、Abl の酵素活性の制御を理解することはがんの治療薬の開発やその副作用の予測に必須であると考えられる。*c-Abl* の酵素活性は、分子内相互作用により、閉じた構造をとることにより厳密に制御されていると考えられている。しかし、どのようなメカニズムで活性化されるかについては不明な点が多い。そこで、申請者は、アダプター分子 Abi-1 を介した *c-Abl* による「新しい基質リン酸化機構」を詳細に解析し、そのメカニズムを明らかにすることにより、*c-Abl* の酵素制御の破綻によるがん発生機構を理解するための基盤とすることを目指した。

まず、質量分析法により *c-Abl* による Abi-1 のチロシンリン酸化部位 (Y213, Y398) を同定した。2箇所チロシンをフェニルアラニンに置換した Abi-1 各種変異体を作製し、これらの部位が *c-Abl* によりリン酸化されることを確認した。さらに、①Abi-1 のチロシンリン酸化が *c-Abl* との結合および酵素活性に関与すること、②Abi-1 の SH3 ドメインと *c-Abl* のプロリンリッチ領域が相互の会合に必要であること、③*c-Abl* と Abi-1 の結合には Abi-1 のリン酸化が重要であることなどを明らかにした。

次に、Abi-1 のリン酸化が *c-Abl* の酵素活性におよぼす影響について解析し、Abi-1 のチロシンリン酸化により *c-Abl* の酵素活性が促進されること、リン酸化された Abi-1 は *c-Abl* による基質 Mena のチロシンリン酸化反応を促進することが分かった。つまり、アダプター分子 Abi-1 のリン酸化は *c-Abl* の酵素活性を活性化し、それにより基質となる分子のリン酸化が促進される機構を見出した。

さらに、以上の知見に基づき、Abi-1 のリン酸化が白血病細胞の接着に及ぼす影響についても解析した。その結果、チロシンリン酸化された Abi-1 が、白血病細胞に見られる細胞接着性に深く関与することが明らかとなった。

以上のように、本論文は、細胞の増殖・分化制御に深く関わりとともに、白血病発症の要因ともなっている原がん遺伝子 *c-Abl* の活性制御に関わるアダプター分子 Abi-1 の新たな機能とその独自性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。