



Title	増殖シグナルによるc-myb原癌遺伝子産物の活性調節
Author(s)	沢崎, 哲哉
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38898
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	沢 崎 哲 哉
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 1 2 7 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 6 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学研究科病理系専攻
学 位 論 文 名	増殖シグナルによる c-myb 原癌遺伝子産物の活性調節
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 西 宗 義 武 (副査) 教 授 北 村 幸 彦 教 授 羽 倉 明

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

myb 遺伝子は最初トリ骨髄芽球症ウイルスの持つ癌遺伝子 v-myb として見出された。v-myb の細胞側相同遺伝子 c-myb の細胞側相同遺伝子 c-myb の発現レベルは未分化造血系細胞で高く、分化にともない低下する。また c-myb アンチセンスオリゴの導入により未分化造血系細胞の増殖が停止する。さらに c-myb 欠損マウスは胎児肝での造血が正常に行なわれず胎児は15日目で致死となる。これらの結果は c-myb 遺伝子産物 (c-Myb) が未分化造血系細胞の増殖に必須であることを示している。c-Myb は 5'-AACNG-3' 配列に結合する転写活性化因子であり、3つの機能ドメインー DNA 結合、転写活性化、及び負の制御に関与するドメインーを持つ。負の制御ドメイン内には蛋白質間相互作用に関与するロイジンジッパー構造が存在し、この構造を壊すと c-Myb の活性が上昇することからロイジンジッパーを介してインヒビターが c-Myb に結合し、c-Myb の活性を抑制することが示されている。一方、細胞増殖因子からのシグナルは受容体、Ras などの G 蛋白質、Src などのチロシンキナーゼを経て最終的には核内の転写因子に伝えられる。未分化造血系細胞での増殖シグナル伝達機構を理解する上で、増殖因子からのシグナルが Myb に伝えられるかどうかは重要な点である。そこで本研究では c-Myb の活性が増殖シグナルにより調節され得るか否かを検討することを目的とした。

【方法ならびに成績】

c-Myb の転写活性化能は Myb 結合部位を持つ CAT レポータープラスミド及び Myb 発現ベクターを用いた CAT コトランスフェクションアッセイにより解析できる。Myb 発現ベクターから産生される c-Myb は CAT レポータープラスミド中の Myb 結合部位に結合し、CAT の発現を促進するので、コントロールエフェクタープラスミドを用いた時の CAT 活性と Myb 発現ベクターを用いて得られた CAT 活性を比較すれば Myb が CAT 遺伝子の転写を活性化する程度がわかる。

増殖シグナルが Myb 活性を調節し得るかどうかを明らかにするために、一連の活性化癌遺伝子産物の発現ベクターを CAT コトランスフェクションアッセイ系に加え、Myb の活性を解析した。もしある経路からの増殖シグナルが c-Myb 活性を調節し得るならば、癌遺伝子産物の発現により特定経路の増殖シグナルが増強され、c-Myb 活性の変動が期待される。予想通り、c-Myb 活性は活性型 Ras, Src, Lyn の強制発現により著しく上昇した。そしてロイジンジッパー変異体の活性は Src, Lyn によって全く上昇しないことから、Src, Lyn の発現により増強されたシグナルは、

c-Myb とインヒビターとの結合を阻害することにより、c-Myb 活性を上昇させていることが示された。また代表的シグナル伝達経路である PKA 経路の影響を解析するため、PKA 触媒サブユニットの発現ベクターを CAT コントランスフェクションアッセイに加え、c-Myb 活性を解析した。PKA 触媒サブユニットの強制発現も、正常 c-Myb の活性を上昇させ、ロイシンジッパー変異体の活性には影響を及ぼさなかった。このことから、PKA 経路からのシグナルによっても Myb とインヒビターの複合体形成が阻害され、その結果、c-Myb 活性が上昇したことが示唆された。

【総括】

c-Myb 活性は Ras, Src, PKA を経由する増殖シグナルにより調節されていることが明らかとなった。未分化造血系細胞の増殖に必須な増殖因子としては IL-3, GM-CSF, SL (SCF) などが知られているので、これらの因子に由来するシグナルが最終的に核内の Myb に伝達され、c-Myb 活性を調節している可能性が高い。増殖因子からのシグナルが Myb に伝達されるメカニズムとしては Src, PKA, Ras を経由するシグナルが特異的リン酸化酵素やホスファターゼを活性化し、Myb やインヒビターのリン酸化・脱リン酸化を誘導することにより c-Myb とインヒビターの複合体を解離するというのが現在の作業仮説であるが、これを明らかにするためには、今後の研究が必要である。

論文審査の結果の要旨

本研究では増殖シグナルによる核内転写因子 c-Myb の活性調節機構について解析している。c-Myb は主に未分化造血系細胞において発現され、その増殖に必須であることは従来示されていたが、c-Myb 活性の調節がどの様に行われているかは不明であった。本研究では、c-Myb 活性の調節機構を明らかにするために CAT コントランスフェクションアッセイの系に活性化癌遺伝子産物発現ベクターを加えて解析を行っている。まず c-Myb の活性が負に制御されていることを示し、それが c-Myb 内部に存在するロイシンジッパー構造を介したインヒビターとの複合体形成によるものであることに言及している。次に c-Myb の活性が、活性化 Src, Lyn, Ras, PKA の発現ベクターを加えることにより上昇することを示し、c-Myb の活性が特定のシグナル伝達経路により調節されていることを明らかにしている。そして、c-Myb ロイシンジッパー変異体を用いた場合にはこれらの活性化癌遺伝子産物の影響を受けないことから c-Myb 活性の促進機構として c-Myb とインヒビターの複合体形成が増殖シグナルにより阻害されるためであると考察している。

従来 c-Myb の活性化機構は構造の面から及されることが多かったが、細胞内シグナル伝達との関連からとらえたことが新しい点であり、ロイシンジッパー変異体を用いることにより、活性調節機構を示唆する結果を得ている。c-Myb の転写活性化能の上昇と細胞癌化能とは密接な関係におり、本研究を進めることにより c-Myb 遺伝子の活性化と白血病発症との関連について明らかにすることが期待できる。細胞内での c-Myb へのシグナル伝達に関しては多数の因子の介在が考えられ、今後これらの因子の同定が望まれる。

c-Myb の活性調節機構を細胞内でのシグナル伝達との関連から初めて明らかにした点で有意義であり、学位論文として価値あるものであると判定した。