The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Functional analysis of the SFK regulation system mediated by Cbp, Csk
Author(s)	小西, 明雄
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44032
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　小西明雄（こにしあきお）

博士の専攻分野の名称　博　士（理　学）

学位記番号　第　17537　号

学位授与年月日　平成15年3月25日

学位授与の要件　学位規則第4条第1項該当

理学研究科生物科学専攻

学位論文名　Functional analysis of the SFK regulation system mediated by Cbp, Csk
（Cbp、Csk を介した SFK 活性調節系の機能解析）

論文審査委員　（主査）
教　授　岡田　雅人

（副査）
教　授　永井　克也　　教　授　吉川　和明

論文内容の要旨

非レセプター型チロシンキナーゼである SFK（Src family tyrosine kinase）は、さまざまなレセプターからのシグナルを細胞外から細胞内へと伝達する仲介スイッチとして働く。仲介スイッチとしてのその作用は、これまでに報告されているだけでも細胞の増殖・分化・接着・運動・生存・細胞死等の多岐にわたる。当研究室では、SFK が濃縮されている raft において、SFK によってリン酸化された Cbp が Csk 結合蛋白質として働いて Csk の raft 移行を引き起こし、raft に移行した Csk が SFK の活性を抑制するネガティブフィードバックによる SFK の活性調節機構を見い出した。

私は、Cbp、Csk による SFK の活性調節機構とその生理的な意義の解明を目標として、野生型の Csk(Csk^+)、Cbp の N 末端の細胞膜結合部位と Csk を結合させ raft に局在するように設計した raft 移行型 Csk($CbpN\text{-}Csk^+$)、さらにそれらの不活性化変異体である Csk^-、$CbpN\text{-}Csk^-$ を、それぞれアデノウイルスベクターを用いて強制発現させて、その細胞への影響を観察した。その結果、$Csk^{+,-}$ と $CbpN\text{-}Csk^{+,-}$ を発現させることで SFK の活性化/不活性化を操作できることが明らかになった。また、実験に使用した COS1 細胞、HT29 細胞、MKN22 細胞、rat 大脳皮質神経細胞の4種類の細胞全てで、Csk^+、$CbpN\text{-}Csk^+$ 発現時に細胞外基質との接着阻害が観察された。さらに、MKN22 細胞以外では、基質接着の阻害に伴って細胞が凝集したことから、細胞間結合の促進が引き起こされていると考えられた。しかし、この細胞の凝集は、基質との接着を阻害すると Csk^-、$CbpN\text{-}Csk^-$ 発現時にも生じることから、基質接着の阻害に伴う二次的な現象と考えられた。対照的に Csk^-、$CbpN\text{-}Csk^-$ 発現時には FAK、paxillin、cortactin などの接着関連蛋白質のリン酸化と接着斑の増大が観察され、インテグリンを介した細胞外基質との接着の促進が引き起こされていると考えられた。これらの結果は、SFK の活性が抑制された状態では基質への結合能が低下して細胞間結合が促進し、SFK の活性化が促進された状態では基質への結合能が上昇することを示している。特に癌細胞株である HT29 細胞や MKN22 細胞での基質接着性の変化は、SFK の活性調節が癌細胞の転移能と密接に関係していることを示し、その制御への Cbp、Csk の関与を示唆するものと考えられる。

細胞は増殖・分化の過程で、基質への接着と乖離をバランス良く行う必要がある。今回の研究で、$Csk^{+,-}$ と $CbpN\text{-}Csk^{+,-}$ の強制発現によってそのバランスを操作できたことから、この基質への接着と乖離のバランスの制御

はCbp、Cskを介したSFKの活性調節によって行われていることが明らかになった。

論文審査の結果の要旨

Src型チロシンキナーゼは（SFK）は、最も初期に同定されたがん原遺伝子産物であるが、その本来の生理機能は未だに十分に理解されていない。本研究では、SFKの本質的な機能を浮き彫りにすることを目的として、SFKの活性制御系をコントロールするCsk、Cbpを利用した解析を行った。アデノウイルスベクターを用いてCskおよび細胞膜ドメインRaft結合型Csk（CbpN-Csk）を強制発現させ、細胞機能に与える影響を観察した。その結果、1）CskによるSFKの活性制御がRaftを中心に行われていること、2）SFKおよびCskが、細胞と細胞外基質との接着および細胞間の結合の調節において重要な役割を担うこと、3）上皮系細胞でのEpithelial-Mesenchymal Transitionの調節に、Csk、CbpによるSFK活性制御系が関与すること、4）SFK活性化による細胞間結合の解離が、基質接着に伴うアクチンフィラメントの再構成によって制御される二次的な現象であることを明らかにした。これらの結果は、SFKの最も本質的な機能が細胞外基質との接着制御にあることを示すものであり、よって本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値があるものと考えられる。