



Title	Bi-directional Regulation of Ser-985 Phosphorylation of c-Met via Protein Kinase C and Protein Phosphatase 2A Involves c-Met Activation and Cellular Responsiveness to Hepatocyte Growth Factor
Author(s)	橋ヶ迫, 敦子
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/49002">https://hdl.handle.net/11094/49002</a>
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、<a href=" <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> ">大阪大学の博士論文について</a>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	橋ヶ迫 敦子
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 21468 号
学位授与年月日	平成19年4月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	Bi-directional Regulation of Ser-985 Phosphorylation of c-Met via Protein Kinase C and Protein Phosphatase 2A Involves c-Met Activation and Cellular Responsiveness to Hepatocyte Growth Factor (プロテインキナーゼCおよびプロテインフォスファターゼ2Aによるc-Met Ser985リン酸化の双方向的制御を介したc-Met活性化ならびに細胞応答制御)
論文審査委員	(主査) 教授 中村 敏一  (副査) 教授 高井 義美 教授 祖父江憲治

### 論文内容の要旨

#### [目的]

肝臓はとりわけ活発な再生能を有しているが、肝重量や組織化の回復と一致して肝細胞の過剰な増殖に至ることなく再生は完了する。HGF (hepatocyte growth factor) は肝臓をはじめとする様々な組織において再生因子として機能するが、HGF は傷害組織において強い生理活性を發揮するものの、無傷の組織においてはほとんど生物活性を示さない。この結果は傷害の有無と連携して c-Met/HGF 受容体のシグナル変換能が ON $\leftrightarrow$ OFF 双方向に制御されること、言い換えると無傷の組織においてはたとえ HGF が結合してもシグナル伝達の活性化に至らない OFF 状態にあり、このような抑制機能が重量や組織化の回復と連携する組織再生の停止に関与することが推定された。そこで、本研究では c-Met 受容体の活性化を抑制することが報告されていた。c-Met 受容体 juxtamembrane 領域の Ser985 のリン酸化に着目し、Ser985 リン酸化の制御機構とリン酸化に依存する HGF の生物活性制御を明らかにすることを目的とした。

#### [方法ならびに成績]

c-Met 受容体 Ser985 のリン酸化制御を生化学的に解析するにあたり、Ser985 がリン酸化された c-Met 受容体を特異的に認識する抗体を調製し、培養ヒト肺ガン細胞 (A549 細胞) を用いて Ser985 のリン酸化制御を解析した。 $H_2O_2$  などによる酸化ストレス条件下ではたとえ増殖因子の刺激下においても細胞周期が停止することを背景として、A549 細胞を  $H_2O_2$  で処理したところ、 $H_2O_2$  刺激によって Ser985 がリン酸化されるとともに、 $H_2O_2$  刺激によって Ser985 がリン酸化された状態では HGF による c-Met の活性化、すなわちチロシンリン酸化は強く抑制された。このとき Ser985 のリン酸化に対する各種阻害剤の影響を調べた結果、Ser985 はプロテインキナーゼ-C (PKC) によってリン酸化されることがわかった。さらに、PKC による Ser985 のリン酸化の詳細を調べたところ、 $H_2O_2$  刺激により PKC は c-Met 受容体と複合体を形成することによって Ser985 のリン酸化を誘導した。一方、Ser985 の脱リン酸化経路について調べたところ、プロテインフォスファターゼ 2A (PP2A) が特異的に Ser985 を脱リン酸化することを見出した。そこで PP2A による Ser985 の脱リン酸化制御を詳しく調べたところ、PP2A は c-Met と複合体を形成している

こと、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 刺激および HGF 刺激によっても複合体形成は変わらないものの、PP2A の fosfoproteinase 活性が H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 刺激によって抑制された。以上の結果に基づき、HGF の生物活性発現に対する Ser985 のリン酸化の影響を調べた結果、Ser985 がリン酸化された条件では、HGF 刺激による細胞増殖促進や細胞分散が強く抑制され、Ser985 のリン酸化は HGF の生物活性を抑制することが明らかになった。

#### [ 総括 ]

本研究から、PKC ならびに PP2A がそれぞれ Ser985 のリン酸化ならびに脱リン酸化を担うこと、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 刺激に応じた Ser985 のリン酸化には PKC の活性化と相反する PP2A の不活性化が関与すること、さらに Ser985 がリン酸化された状態では HGF 刺激に依存する c-Met 受容体の活性化が抑制されるとともに HGF の生物活性が抑制されることが明らかになった。c-Met 受容体には全長型の c-Met に比べ発現レベルは低いものの、スプライシングバリエントとして juxtamembrane 領域を欠失する variant c-Met が存在することが知られており、juxtamembrane 領域は何らかの生理的機能を担うことが推定される。Ser985 のリン酸化は c-Met の活性化と相反的に制御されることから juxtamembrane の機能の一つは Ser985 のリン酸化を介した c-Met 活性化の抑制にあることが示唆される。また、HGF-c-Met 系は肝再生を含む臓器の再生を担うことから、Ser985 のリン酸化は組織傷害などを引き金とする c-Met 受容体のシグナル変換能の ON $\leftrightarrow$ OFF スイッチ、とりわけ再生による組織化の完了（無傷性の回復）と連携する c-Met 受容体の抑制機能に関与することが推察される。

#### 論文審査の結果の要旨

肝臓はとりわけ活発な再生能を有しているが、肝重量や組織化の回復と一致して肝細胞の過剰な増殖に至ることなく再生は完了する。HGF (hepatocyte growth factor) は肝臓をはじめとする様々な組織において再生因子として機能するが、HGF は傷害組織において強い生理活性を發揮するものの、無傷の組織においてはほとんど生物活性を示さない。このことは傷害の有無と連携して c-Met/HGF 受容体のシグナル変換能が ON $\leftrightarrow$ OFF 双方向に制御されること、言い換えると無傷の組織においてはたとえ HGF が結合してもシグナル伝達の活性化に至らない OFF 状態にあり、このような抑制機能が重量や組織化の回復と連携する組織再生の停止に関与することが推定された。そこで、本研究では c-Met 受容体の活性化を抑制することが報告されていた c-Met 受容体 juxtamembrane 領域の Ser985 のリン酸化に着目し、Ser985 リン酸化の制御機構とリン酸化に依存する HGF の生物活性制御を明らかにすることを目的としている。

本研究の結果から、PKC ならびに PP2A がそれぞれ Ser985 のリン酸化ならびに脱リン酸化を担うこと、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 刺激に応じた Ser985 のリン酸化には PKC の活性化と相反する PP2A の不活性化が関与すること、さらに Ser985 がリン酸化された状態では HGF 刺激に依存する c-Met 受容体の活性化が抑制されるとともに HGF の生物活性が抑制されることが明らかになった。HGF-c-Met 系は肝再生を含む臓器の再生を担うことから、Ser985 のリン酸化は組織傷害などを引き金とする c-Met 受容体のシグナル変換能の ON $\leftrightarrow$ OFF スイッチ、とりわけ再生による組織化の完了（無傷性の回復）と連携する c-Met 受容体の抑制機能との関与が示唆された本研究は学位に値するものと認める。