The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Molecular Characterization of Striated Muscle-Specific Gab1 Isoform as a Critical Signal Transducer for Neuregulin-1/ErbB Signaling in Cardiomyocytes
Author(s)	安居, 琢
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/61539
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	安居　琢
論文題名 Title	Molecular Characterization of Striated Muscle-Specific Gab1 Isoform as a Critical Signal Transducer for Neuregulin-1/ErbB Signaling in Cardiomyocytes (横紋筋特異的Gab1アイソフォームは心筋細胞におけるNeuregulin-1/ErbBシグナルで重要な役割を担う)

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

生活習慣の欧米化や人口の急速な高齢化に伴い、高血圧や心筋梗塞などの動脈硬化性疾患が増加し、心不全患者は増加している。その心不全の治療成績を向上させるためには、新たな分子標的に対する治療法の開発が必要である。Grb2-associated binder (Gab)ドッキング蛋白質は細胞外からの刺激（増殖因子やサイトカイン）依存性にチロシンリン酸化を受け、蛋白質脱リン酸化酵素SHP2やPI3-キナーゼp85調節サブユニットと会合してMAPキナーゼ（ERK1/2）やAKTの活性化を調節する。我々は心筋細胞特異的Gab1/Gab2二重欠損マウスを作成したところ、拡張型心筋症様の表現型を自然発症することより、Gab1/Gab2が心筋細胞の機能維持に重要であることを見出した。さらに、心筋細胞に発現し肝臓や腎臓では発現しないhigh-molecular weight Gab1 (high-MW Gab1) isoformが存在し、心臓の発生・機能維持に必須のNeuregulin-1 (NRG-1) で最も強いチロシンリン酸化を受けることを見出した。本研究はhigh-MW Gab1を同定し心筋細胞における役割を明らかにすることを目的として行った。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

野生型マウスの心臓、脳、肺からcDNAを合成し、PCRを行ったところ、ユビキタスに発現するlow-molecular weight Gab1 (low-MW Gab1) isoformのエクソン3-4間に、high-MW Gab1においてのみ含まれるエクソンを見出した。このエクソンは81塩基対からなり、コードされる27アミノ酸は哺乳類において高度に保存されていた。

cDNA panelを用いてhigh-MW Gab1の臓器分布をmRNAレベルで調べたところ、心臓で最も発現量が多く、心臓に比べ少ないが骨格筋にも発現していることが分かった。次に発生・発育によるhigh-MW Gab1の発現変化を心臓のmRNAを用いて調べたところ、胎生11.5日から4週齢にかけて同程度に発現していた。抗high-MW Gab1抗体を作成し、蛋白質レベルでの臓器分布をウエスタンブロットで検討したところ、心臓で発現していることが示された。また、抗high-MW Gab1抗体を用いて、胎生11.5日と胎生17.5日の野生型マウス胎児の免疫染色を行ったところ、心臓、骨格筋では発現し、他の臓器では発現していなかった。以上より、high-MW Gab1は心筋や骨格筋といった横紋筋に特異的に発現していることが示された。

次にhigh-MW Gab1のNRG-1/ErbBシグナルにおける役割を調べた。野生型マウスの下大静脈から生理食塩水、LIF、NRG-1、HB-EGF、EGFを静注し、5分後に心臓を取り出してlysateを作成した。ウエスタンブロットの結果、high-MW Gab1はNRG-1でのみチロシンリン酸化を受けた。ErbB4のチロシンリン酸化もNRG-1でのみ起こっており、high-MW Gab1のリン酸化はErbB4を介していることが示唆された。アデノウイルスベクターを用いてhigh-MW Gab1を新生児ラット培養心筋細胞に過剰発現させ、NRG-1刺激を行ったところ、コントロールと比べ、ERK1/2のリン酸化には差がないのに対し、AKTのリン酸化が亢進していた。一方、siRNAを用いてhigh-MW Gab1をノックダウンしたところ、NRG-1刺激によるERK1/2のリン酸化はコントロールと差がないものの、AKTのリン酸化は減弱していた。以上より、high-MW Gab1はNRG-1/ErbBシグナルにおいて、AKTのリン酸化に重要な役割を担うことが示唆された。

〔総　括(Conclusion)〕

横紋筋特異的Gab1 isoformは心筋細胞のNRG-1/ErbBシグナルにおいて重要な役割を担う。

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　安居　琢

論文審査担当者		（職）	氏　名
	主　査	大阪大学教授	坂田泰史
	副　査	大阪大学教授	熊ノ郷淳
	副　査	大阪大学教授	中神啓徳

論文審査の結果の要旨

これまで心筋細胞においては、恒常的に発現しているアイソフォームに加え、分子量の大きいhigh-MW Gab1アイソフォームが発現していることが知られていたが、その機能は明らかではなかった。

本研究では、high-MW Gab1アイソフォームの同定を行い、心筋や骨格筋といった横紋筋組織に発現していることを明らかにした。Neuregulin-1/ErbBシグナルは心筋細胞の増殖や恒常性の維持に重要であることが知られているが、本稿では、横紋筋特異的なhigh-MW Gab1アイソフォームが、Neuregulin-1/ErbBにおけるAKTの活性化に重要であることを明らかとした。Neuregulin-1は新規の心疾患治療薬として期待されており、横紋筋特異的なhigh-MW Gab1はそのシグナルにおいて重要であることが示唆された。

今回の論文審査の結果、横紋筋特異的Gabアイソフォームを初めて同定し機能を明らかとした論文であり、学位に値するものと認める。