

Title	Ubiquitylation of Src promotes secretion of Src via small extracellular vesicles to suppress its oncogenic potential
Author(s)	田中, 健太郎
Citation	大阪大学, 2020, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.18910/76391">https://doi.org/10.18910/76391</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

## 論 文 内 容 の 要 旨

氏 名 ( 田 中 健 太 郎 )

論文題名

Ubiquitylation of Src promotes secretion of Src via small extracellular vesicles to suppress its oncogenic potential

(Srcのエビキチン化はその発がん能を抑制するために細胞外小胞による分泌を促進する)

論文内容の要旨

Upregulation of Src tyrosine kinase has been implicated in the progression of cancer malignancy. To suppress the oncogenic potential, Src has multiple negative-regulation systems including degradation via the ubiquitin-proteasome pathway. Here, we show that ubiquitylation of Src is also involved in promoting secretion of Src via small extracellular vesicles (sEV) to suppress its oncogenic potential. In MDCK cells, activated Src was transported from plasma membrane to late endosomes/lysosomes and was eventually secreted via sEV by promoting that secretion. Inhibition of global ubiquitylation and ablation of E3 ligases for Src attenuated its secretion, indicating that ubiquitylation of Src is involved in these processes. Activated Src was ubiquitylated at multiple sites, among which Lys429 was identified as a critical site required for promotion of sEV secretion. A point mutant of Src (R429) was resistant to ubiquitylation and had a lower ability to promote sEV secretion, although it had a kinase activity comparable with that of wild-type Src. Activated R429 mutant was transported to late endosomes/lysosomes like wild-type Src, while the efficiency of its incorporation into intraluminal vesicles was significantly reduced. Furthermore, activation of R429 mutant potentiated the Src-induced invasive phenotypes, i.e., invadopodia formation, production of matrix metalloproteases, and in vitro invasive activity. Together, these findings suggest that ubiquitylation of activated Src at Lys429 promotes secretion of Src via sEV, providing a new avenue to suppress the oncogenic potential of upregulated Src.

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 ( 田 中 健 太 郎 )	
	(職) 氏 名
論文審査担当者	主 査 教授 岡田 雅人
	副 査 教授 三木 裕明
	副 査 教授 石谷 太
<b>論文審査の結果の要旨</b>	
<p>チロシンキナーゼ Src の異常な機能亢進はがんの悪性化をもたらす。これを回避するために我々の体は Src に対しユビキチン/プロテアソーム分解系を含む様々な調節機構を備えている。近年がん細胞において、Src が細胞外小胞の一つエクソソームを介して細胞外へ分泌されることや、その分泌量の制御に関わることが報告されてきたが、その分子機序の詳細や生理的意義に関しては理解が及んでいなかった。本論文において論文提出者は、この機構に Src の特定の部位 (Lys429) のユビキチン修飾が関与し、活性化 Src の分泌を促進することでその発がん能を抑制することを明らかにした。</p> <p>まず、Src の分泌が活性に依存することを活性化誘導系を用いて確かめ、ユビキチン化阻害剤の投与や責任リガーゼ欠損株の結果より、ユビキチン修飾の関与を明らかにした。また、活性化 Src の生化学的分析により、Src のユビキチン修飾部位 Lys429 を同定した。そして非ユビキチン化型変異体が自身の分泌と細胞外小胞の分泌亢進の不良を示すことを確かめ、その結果として Src の活性化に依存する細胞の浸潤能を増大させることを見出した。さらにその際に、浸潤能亢進に関わる Src 基質である FAK の活性化、および細胞外マトリックス分解酵素 MMP の発現上昇が誘導されることを見出し、Src の機能が亢進していることを明らかにした。これらの発見は、Src のユビキチン修飾による細胞外への放出が、がん悪性化抑制機構として機能することを示唆しており、がんの治療戦略に新たな識見を与えるものである。</p> <p>よって、本論文は博士 (理学) の学位論文として十分価値あるものと認める。</p>	