

シグナル伝達における蛋白質燐酸化酵素の活性調節

Regulation of Protein Kinases in Cell Signaling

(研究プロジェクト番号: JSPS-RFTF 96L00305)

プロジェクトリーダー

大野 茂男 横浜市立大学医学部・教授

コアメンバー

平井 秀一 横浜市立大学医学部・助教授

鈴木 厚 横浜市立大学医学部・講師

水野 恵子 横浜市立大学医学部・助手

秋本 和憲 横浜市立大学医学部・助手



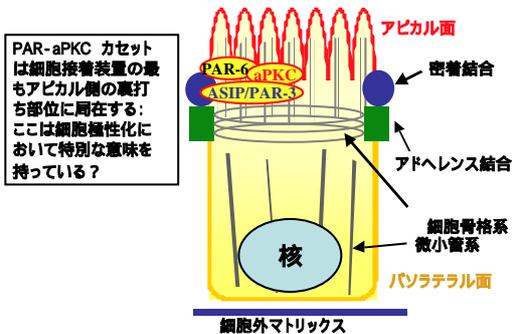
1. 研究目的

体の内と外を隔てる上皮細胞、神経伝達を担うニューロンなどでは細胞内の諸装置や分子群が実に秩序正しく空間的に配置されている。このような細胞の極性は、発生、組織形成・再生、癌化をはじめとしてあらゆる細胞の働き的基础となっている。その機構や意義はほとんど不明であった。

私たちは、細胞シグナル伝達分子、プロテインキナーゼCが線虫の受精卵の細胞極性の成立に必須であることを見いだした。

本研究プロジェクトでは、この発見を進展させ、1) ほ乳類における細胞極性決定遺伝子のさらなる同定 2) 細胞極性タンパク質の役割とその分子メカニズム 3) 高等動物において細胞極性はほんとうに大切な、などの点を明らかにすることを目的とした。

極性の発達した上皮細胞では細胞内装置群は秩序だてて配置されている

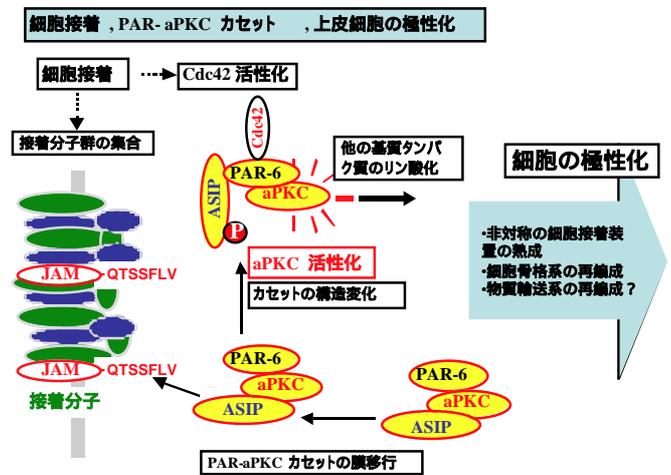


2. 研究成果概要

2.1 ほ乳類の極性タンパク質の発見

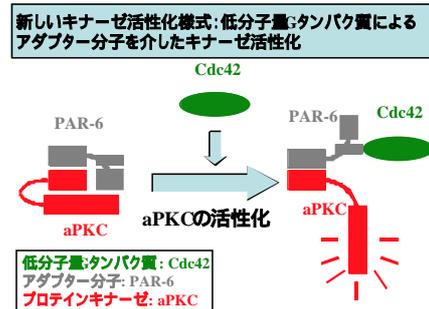
ほ乳類のシグナル伝達タンパク質、aPKC の結合タンパク質、ASIP が、線虫受精卵の極性タンパク質、PAR-3 と相同性を有することを端緒として、aPKC が線虫の受精卵で PAR-3、PAR-6 と共同して、非対称細胞分裂に先立つ細胞の極性化に働いていることを見いだした。さらに、これらのほ乳類相同分子が、極性化した細胞の典型として解析の進んでいる上皮細胞では、細胞接着部位に局在することを見いだした。また、これらが3者複合体として働いていることを示した。さらに、分子生物

学的手法を用いて、これらが、上皮細胞の極性化の段階で必須の役割を果たしていることを証明した。



2.2 プロテインキナーゼの新たな活性化機構

一連の解析の過程で、aPKC が PAR-6 を介して活性型 Cdc4 により活性化されることを見いだした。



Cdc42 は PAR-6 の CRIB モチーフに結合し、PAR-6 を介して aPKC と3者複合体を形成する。この結果、aPKC のキナーゼ活性が活性化される。これは、キナーゼ活性化の新しい様式である。

2.3 タンパク質間相互作用の新たな制御様式

ASIP/PAR-3 が、aPKC の生理な基質タンパク質であり、aPKC によるリン酸化により、

aPKC との結合が解離することを見いだした。aPKC と ASIP/ PAR-3 との結合は安定であるが、aPKC の活性化により解離する。従来漠然と考えられてきたプロテインキナーゼと基質タンパク質との関係が、触媒的なものであるよりもむしろ化学量論的なものである場合があることを示したことになる。

タンパク質相互作用を制御する新しい様式
aPKC-ASIP 相互作用は安定であるが、aPKC の活性化に続いて ASIP がリン酸化されると解離する



プロテインキナーゼは、自身のタンパク質間相互作用を自ら制御子スイッチとして、広く用いられていることが予測される

2.4 進化の過程で保存された細胞極性制御システム「aPKC-PAR カセット」

aPKC、ASIP/ PAR-3、PAR-6 からなる 3 者複合体が、線虫からほ乳類まで保存されていることから、我々はこれが進化の過程で保存された分子カセットとして、細胞極性化に関わっていることを提唱し、その仮説の検証を行ってきた。その結果、線虫の受精卵、ツメガエルの卵、ほ乳類上皮細胞など、一見全くことなる様々な生物学的な局面で細胞極性化に関わっていることを証明した。他の研究者により、ショウジョウバエの系でも同様のことが観察され、仮説の正しいことが広く認められるに至った。

2.5 高等動物における細胞極性の重要性の証明

aPKC のノックアウトマウス、ツメガエルの系での遺伝子機能破壊実験から、線虫やショウジョウバエのみならず、脊椎動物においても、細胞極性が発生段階で必須の役割を果たしていることを証明した。

3. 結論

進化の過程で保存された、細胞極性タンパク質群を発見し、これが「aPKC-PAR カセット」と名付けた 3 者複合体として、様々な系で細胞の極性化に必須の役割を果たしていることを見いだした。さらに、その作用機構の解析から、高等動物における細胞極性の重要性を証明した。また、この過程で、プロテインキナーゼの新たな活性化機構、タンパク質間相互作用の新たな制御様式を発見した。

主な発表論文

(1) Izumi Y et al. atypical PKC directly associates and co-localizes at the epithelial tight junction with ASIP, a mammalian homologue of *Caenorhabditis elegans* polarity protein PAR-3. *J. Cell Biol.*, 143, 95-106,

1998.

- (2) Tabuse Y et al. Protein Kinase C Cooperates with PAR-3 to Establish Embryonic Polarity in *Caenorhabditis elegans*. *Development*, 125, 3607-3614, 1998.
- (3) Nakaya M. et al. Meiotic Maturation Induces Animal-Vegetal Asymmetric Distribution of aPKC and ASIP/ PAR-3 in *Xenopus* oocytes. *Development*, 127, 5021-5031, 2000.
- (4) Suzuki A et al. protein kinase C is involved in the evolutionarily conserved PAR protein complex and plays a critical role in establishing epithelia-specific junctional structures. *J. Cell Biol.*, 152, 1183-1196, 2001.
- (5) Yamanaka T et al. PAR-6 regulates aPKC activity in a novel way and mediates cell-cell contact-induced formation of the epithelial junctional complex, *Genes Cells*, 6, 721-31., 2001.
- (6) Ohno, S.: Intercellular junctions and cellular polarity: the PAR-aPKC complex, a conserved core cassette playing fundamental roles in cell polarity, *Curr Opin Cell Biol*, 13, 641-8., 2001.
- (7) Yamashita A et al. SMG-1, a novel phosphatidylinositol 3-kinase-related protein kinase, associates with components of the mRNA surveillance complex and is involved in the regulation of nonsense-mediated mRNA decay, *Genes Dev*, 15, 2215-28., 2001.