

学位論文題名

SHP2ホスファターゼによる parafibromin/Cdc73 の
機能制御に関する研究

学位論文内容の要旨

SHP2 は進化的に高度に保存された非受容体型チロシンホスファターゼであり、哺乳動物細胞において細胞質ならびに核内でその発現が観察される。細胞質に存在する SHP2 は、細胞増殖を強く促す RAS-ERK 経路の活性化および細胞運動・細胞骨格制御に関与することが知られているが、核内に分布する SHP2 の生物活性は不明である。SHP2 は *PTPN11* 遺伝子にコードされ、その機能獲得型変異の存在が先天性発達障害 Noonan 症候群、あるいは小児骨髄単球性白血病 (JMML) に代表される多様なヒト癌において明らかにされており、ヘリコバクターピロリの慢性感染が引き起こす胃発癌においても決定的な役割を担うことから「癌タンパク質」として知られている。しかしながら、発癌プロセスに密接に関与する SHP2 の基質タンパク質は今日までに明らかにされていない。

本研究では、SHP2 が保有する未知の生物活性ならびに SHP2 依存的な発癌分子機構を明らかにすることを目的に基質トラップ型 SHP2 変異体ならびに質量分析を組み合わせた網羅的な SHP2 の基質スクリーニングを行った。その結果、転写制御ならびにポスト転写制御に深く関わる核内 PAF 複合体構成タンパク質のひとつ、parafibromin/Cdc73 を SHP2 の新規基質分子として同定した。ヒトにおいて parafibromin は副甲状腺癌の癌抑制タンパク質として単離された分子であり、ヒストンメチルトランスフェラーゼ SUV39H1 の活性化を介して癌遺伝子 *cyclin D1* および *c-myc* の転写を抑制することが示されている。一方、parafibromin は β -catenin との複合体形成を介して、細胞癌化に深く関わる Wnt 経路の標的遺伝子 (*cyclin D1*, *c-myc* など) を転写活性化することも明らかにされている。本論文では、SHP2 による parafibromin のチロシン脱リン酸化が parafibromin- β -catenin の複合体形成ならびにそれに伴う β -catenin の核内蓄積を誘導し、その脱制御が Wnt シグナルを活性化することを明らかにした。また、parafibromin- β -catenin 複合体形成が同時に parafibromin-SUV39H1 依存的な転写抑制を解除すること、ならびに核内基質 parafibromin のチロシン脱リン酸化に重要な役割を担う SHP2 の核内移行が増殖亢進シ

グナル (RAS 経路など) によって促進することを見出した。

本論文により、SHP2 は細胞質で RAS-ERK シグナル経路の活性化を促進するのみならず、核内で Wnt シグナル活性化因子として機能することが明らかにされ、SHP2 の異常活性化が多くのヒト癌発症に関与すると考えられている RAS-ERK 経路及び Wnt 経路を同時に脱制御することが示された。

学位論文審査の要旨

主査	教授	坂口	和靖
副査	教授	村上	洋太
副査	教授	高岡	晃教
副査	教授	鈴木	孝紀
副査	教授	畠山	昌則

(東京大学大学院医学系研究科)

学位論文題名

SHP2ホスファターゼによる parafibromin/Cdc73 の 機能制御に関する研究

チロシンホスファターゼ SHP2 は細胞質および核内に局在し、その脱制御が若年性骨髄単球性白血病 (JMML) を初めとする血液癌ならびにピロリ菌感染が引きこす胃癌、さらには小児血液癌の発症リスクを増進する先天奇形 Noonan 症候群に密接に関与する癌タンパク質である。哺乳動物細胞で SHP2 は細胞質において RAS 経路を活性化し、細胞増殖を亢進するが、その詳細な分子機構は明らかにされていない。一方で、核内に分布する SHP2 についても、核内移行および活性化の分子機構が不明であり、核内 SHP2 の生物学的役割は未だ明らかにされていない。このような背景から SHP2 活性化が引き起こす発癌の分子メカニズムの解明には更なる研究成果が待たれる状況にある。

本研究は、SHP2 の基質候補分子を網羅的にスクリーニングすることで新規基質分子を同定し、その機能解析を通して SHP2 依存的な発癌分子メカニズムを解明することを目的としており、筆者は上記目的を達する以下の有益な知見を得て、その研究成果を本学位論文として纏めている。

第1章では、基質トラップ変異型 SHP2 と特異的に結合する SHP2 基質候補分子を質量分析により網羅的に同定し、転写の開始、伸長および転写後修飾の制御に関与する核内タンパク質複合体、RNA polymerase II-associated factor (PAF) 複合体が SHP2 の基質となる可能性を見出した。

第2章では、PAF 複合体の主要な構成タンパク質の1つ、parafibromin/Cdc73 が細胞内でチロシンリン酸化を受けることを見出し、そのリン酸化部位としてチロシン (Y) 残基 290 番、293 番および315 番を同定した。また、SHP2 が parafibromin のチロシンリン酸化部位 (Y290, Y293, Y315) を

基質として脱リン酸化することを明らかにし、核内チロシンキナーゼ c-Abl が parafibromin チロシンリン酸化の責任キナーゼの1つであることを見出した。

第3章では、SHP2による parafibromin のチロシンリン酸化が parafibromin- β -catenin 複合体の形成を促進することを明らかにし、これとは逆に Abl キナーゼの発現が parafibromin- β -catenin 複合体形成を抑制することを示した。また、SHP2が促進する核内での parafibromin- β -catenin 複合体の形成が細胞質-核間を往来する β -catenin の核内集積を促進することを見出した。

第4章では、筆者は SHP2 が parafibromin- β -catenin 複合体の形成を介して Wnt 経路標的遺伝子 (*c-myc*, *cyclin D1*) の転写を活性化することを明らかにし、マウス生体を用いて SHP2 脱制御による Wnt 経路の活性化を示した。Parafibromin はヒストンメチルトランスフェラーゼ SUV39H1 との相互作用を介して *c-myc* および *cyclin D1* 遺伝子の転写を抑制するが、筆者は parafibromin- β -catenin 相互作用が SUV39H1 に依存した転写抑制を乗り越え、Wnt 標的遺伝子 (*c-myc*, *cyclin D1*) の転写を活性化することを明らかにし、癌抑制タンパク質として知られる parafibromin がチロシン脱リン酸化に依存して増殖/癌化を促進することを示した。最後に筆者は、本研究で見出した SHP2-parafibromin-Wnt 経路の制御機構について検討し、parafibromin のチロシン脱リン酸化を促す SHP2 の核内移行が RAS 経路の活性化によって促進されることを見出した。

これを要するに、本論文は SHP2 による核内基質分子 parafibromin のチロシン脱リン酸化を介した Wnt シグナル活性化機構を新たな細胞内シグナル伝達経路として同定したものであり、SHP2 がこれまで知られていた RAS 経路に加えて Wnt 経路を連動して活性化することを世界に先駆けて明らかにしたものである。SHP2 が標的とする RAS 経路および Wnt 経路は細胞増殖ならびに細胞分化の制御に関わり、その脱制御は癌を初めとした多様な疾患の発症に密接に関与することから、筆者が本研究で得た新たな知見は SHP2 脱制御に起因した発癌ならびに先天奇形発症の分子メカニズムの解明に対して貢献するところ大なるものがある。

よって著者は、北海道大学博士(理学)の学位を授与される資格あるものと認める。