

学位論文審査の結果の要旨

平成 26 年 11 月 19 日

審査委員	主査	西山 成		
	副主査	徳田 雅明		
	副主査	正木 功		
願出者	専攻	分子情報制御医学専攻	部門	病態制御医学部門
	学籍番号	09D737	氏名	新谷 高理
論文題目	Cbl negatively regulates erythropoietin-induced growth and survival signaling through the proteasomal degradation of Src kinase			
学位論文の審査結果	<input checked="" type="radio"/> 合格 ・ <input type="radio"/> 不合格 (該当するものを○で囲むこと。)			
<p>[要 旨]</p> <p>我々は Cbl 欠損 F-36P ヒト赤白血病株化細胞を用いて、エリスロポエチン (EPO) シグナル伝達における Cbl の生物学的機能について解析した。</p> <p>その結果、①生理的 EPO 濃度において、Cbl 発現抑制により F-36P 細胞の EPO 依存性増殖及び生存が亢進すること、②プロテアソーム阻害剤 MG-132 により Src 分解が抑制されること、③阻害剤を用いた実験及び共発現実験より、Cbl 及び Src キナーゼ活性が EPO 刺激による Src ユビキチン化に必要であり、Src キナーゼ活性が Cbl のチロシンリン酸化及びユビキチン化に必要であることを証明した。</p> <p>以上より、Cbl は Src のユビキチン-プロテアソーム経路による分解を介して、EPO シグナル伝達を負に制御することが明らかとなった。</p> <p>平成26年11月11日に行われた学位論文審査委員会において、以下の通り質疑応答を行った。</p> <p><五十嵐指定討論者></p> <ul style="list-style-type: none"> ・ Cblのチロシンリン酸化実験において、Cblと共沈している130kDの蛋白の由来は。→未確定だが、immunoblotにてJak2でないことは確認済である。 ・ Time course analysisの際、Src蛋白量をimmunoprecipitationにて検出した理由は。→F-36P細胞ではSrc蛋白量が少なく、whole cell lysatesを用いたimmunoblotでは検出困難なため。 ・ 本研究ではLynやFynなど他のSrc familyではなく、Srcで検討した理由は。→以前よりEPOシグナルにおけるSrcによるPI3-kinase/Akt及びStat5を介したシグナル伝達経路の調節メカニズムの重要性を証明し報告していることから、Srcに着目し検討した。 				

<正木副主査>

・EPO受容体 (EPOR) のチロシンリン酸化について検討は行ったか。→EPORはキナーゼ活性を有しておらず、Jak2やSrc familyなどによりチロシンリン酸化されることが既に明らかとなっている。

・Cb1はがんの発症にどう関与しているか。→急性骨髄性白血病 (AML) で約5%にCb1遺伝子の変異が認められ、その変異によるユビキチンリガーゼ活性の喪失が白血病細胞の増殖に関与することが知られている。(徳田副査より類似の質問あり)

・Srcユビキチン化にSrcキナーゼ活性は必要か。→Src阻害剤を用いた実験や共発現実験より、Srcユビキチン化にSrcキナーゼ活性が必要であることを証明した。

<徳田副主査>

・Cb1のチロシンリン酸化のメカニズムは。→チロシンキナーゼ阻害剤を用いた実験や共発現実験より、EPO刺激によるCb1のチロシンリン酸化はJak2ではなくSrcにより行われていることを明らかにした。

・ユビキチン化されたCb1はプロテアソーム系で分解されるか。→本研究では十分な検討はなされていないが、これまでの報告からプロテアソーム系で分解されることが想定される。

・EPOの生理的濃度とは。→健常人血清中EPO濃度 (0.005 - 0.04 U/mL) を生理的濃度と定義した。

<西山主査>

・WST-1 assayにて、EPO非存在下においてCb1欠損F-36P細胞とmock細胞の間で増殖に有意差がみられた理由は。→F-36P細胞の増殖や生存に関与するEPOシグナル以外のシグナル伝達経路の調節にもCb1が関与している可能性が考えられる。

・F-36P細胞は増殖因子非依存性に増殖及び生存するか。→EPO依存性であり、EPO非存在下では増殖及び生存しない。

・F-36P細胞を用いて細胞周期の解析は行ったか。→細胞周期の解析は行っていない。

・COS7細胞を用いた理由は。→共発現実験にてCb1のチロシンリン酸化について解析するため。

・今後の研究の展望は。→本研究では赤芽球系株化細胞を用いたが、今後は正常ヒト赤芽球系細胞を用いた解析を行い、臨床応用に近付けたい。

本論文はEPOシグナル伝達におけるCb1の生物学的機能とそのメカニズムに関する研究であり、SrcによるCb1のチロシンリン酸化及びCb1によるSrcのユビキチン化を証明することで、Cb1がSrcのユビキチン-プロテアソーム経路による分解を介してEPOシグナル伝達を負に制御していることを解明したことに意義があり、審査委員は一致して医学博士論文に相応しいものと判断し、合格とした。

掲 載 誌 名	Blood Cells, Molecules and Diseases 第 53 卷, 第 4 号		
(公表予定) 掲 載 年 月	2014 年 12 月	出版社 (等) 名	Elsevier B. V.

(備考) 要旨は, 1, 500字以内にまとめてください。