



# 岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

## GPCRシグナル依存性Rho活性化因子PLEKHG2の蛋白質間相互作用を介した制御機構とその細胞機能

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2019-06-17 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 西川, 将司 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12099/77982">http://hdl.handle.net/20.500.12099/77982</a>

氏名（本籍）	西川 将司（岐阜県）
学位の種類	博士（工学）
学位授与番号	甲第 47 号
学位授与日付	平成 31 年 3 月 25 日
専攻	創薬科学専攻
学位論文題目	GPCRシグナル依存性Rho活性化因子PLEKHG2の蛋白質間相互作用を介した制御機構とその細胞機能 (Cellular functions of regulation mechanisms of PLEKHG2, a Rho family small G-protein-specific guanine nucleotide exchange factor, by protein-protein interaction)
学位論文審査委員	(主査) 教授 横川 隆志 (副査) 教授 武藤 吉徳 (副査) 特任教授 赤尾 幸博 (副査) 教授 上田 浩

#### 論文内容の要旨

細胞接着や遊走等を司るアクチン細胞骨格の重合/脱重合反応の調節には、Rho ファミリー低分子量 G 蛋白質 (Rho) や、その主要な活性化因子である Rho 特異的グアニンヌクレオチド交換因子 (RhoGEF) 等が関与している。p115RhoGEF や P-REX1、PLEKHG2 等を含む RhoGEF 群は、細胞外刺激の一種である三量体 G 蛋白質共役型受容体 (GPCR) シグナルにより時空間的に制御されることが知られている。過去、我々のグループは、この内の PLEKHG2 が三量体 G 蛋白質サブユニットの G $\beta\gamma$  との相互作用により活性化され、Gas との相互作用で抑制されることを報告した。PLEKHG2 は、ある種の lymphoma や神経疾患との関連も報告されていることから、これらの病態解明のために PLEKHG2 の制御機構や細胞機能の詳細を明らかにする意義は大きいと考えられる。

一般的に蛋白質の細胞機能は、その蛋白質が持つドメイン構造から推測することができるが、PLEKHG2 は RhoGEF 活性を担う DH/PH ドメイン以外に既知の機能ドメインを持たない。そのため、過去我々のグループは、PLEKHG2 の相互作用蛋白質の探索を行ってきた。本研究では、その過程で同定された Four and a half LIM domain 含有蛋白質 (FHL) 1 と Abelson tyrosine kinase (ABL) 1 による PLEKHG2 の活性及びその細胞機能への影響について検討し、次の二点について明らかにした。

#### 1) FHL1 の GPCR シグナルによる PLEKHG2 調節機構への影響について

過去、酵母 Two-hybrid 法により PLEKHG2 の相互作用分子として見出された FHL1 は、FHL2 と FHL3 の三つのアイソフォームからなる。本研究では、これらの内、FHL1 が特異的に PLEKHG2 と相互作用することを明らかにした。さらに、FHL1 は G $\beta\gamma$  による PLEKHG2 の活性化効果を増強し、Gas による抑制効果を減弱させることが示された。これらのことから、FHL1 が GPCR シグナルによる PLEKHG2 の活性調節を制御する因子として働くことが示唆された。

#### 2) PLEKHG2 と ABL1 の相互作用が誘導する新規細胞増殖抑制機構について

細胞の癌化と密接に関わる非受容体型チロシンキナーゼの一種である SRC によりリン酸化された PLEKHG2 と相互作用する蛋白質の一つに ABL1 が見出された。本研究では、PLEKHG2 と ABL1

の相互作用が、PLEKHG2 を不活性化して細胞伸展を抑制すること、また、細胞内で蛋白質凝集体を形成することを明らかにした。さらに、蛋白質凝集体が nuclear factor (NF)- $\kappa$ B シグナルを介して細胞増殖を抑制している可能性を見出した。

本研究により、PLEKHG2 は蛋白質間相互作用を介して、細胞形態制御に関わる Rho シグナルだけではなく、細胞増殖に関わる NF- $\kappa$ B シグナルの制御も担っていることが示唆された。今後、さらに PLEKHG2 を中心にしたシグナル経路を明らかにすることで、今まで知られていない疾病原因の解明につながる可能性や、それに伴い PLEKHG2 をターゲットとした創薬開発が進むことが期待される。

#### 論文審査結果の要旨

本論文は、三量体G蛋白質共役型受容体 (GPCR) シグナルにより時空間的に制御されることが知られているRho特異的グアニンヌクレオチド交換因子 (RhoGEF) の一種であるPLEKHG2と細胞内分子との相互作用とそれに伴う細胞機能調節に関する研究成果をまとめたものである。

本研究では、申請者が所属している研究グループが、過去、PLEKHG2 と相互作用する分子として同定したアダプター蛋白質の1つである Four and a half LIM domain 含有蛋白質 (FHL) 1 と、非受容体型チロシンキナーゼの1つである Abelson tyrosine kinase (ABL) 1 による PLEKHG2 の活性及びその細胞機能への影響について検討し、次の二点について明らかにした。

まず一点目として、FHL1 の GPCR シグナルによる PLEKHG2 調節機構への影響について検討し、FHL1 は、FHL2 と FHL3 の三つのアイソフォームからなる。本研究では、これらの内、FHL1 が特異的に PLEKHG2 と相互作用することを明らかにした。さらに、FHL1 は G $\beta\gamma$ による PLEKHG2 の活性化効果を増強し、G $\alpha$ s による抑制効果を減弱させることが示された。これらのことから、FHL1 が GPCR シグナルによる PLEKHG2 の活性調節を制御する因子として働くことが示唆された。

2点目として、PLEKHG2 と ABL1 の相互作用が誘導する新規細胞増殖抑制機構について検討し、細胞の癌化と密接に関わる非受容体型チロシンキナーゼの一種である SRC によりリン酸化された PLEKHG2 と相互作用する蛋白質の一つに ABL1 が見出された。本研究では、PLEKHG2 と ABL1 の相互作用が、PLEKHG2 を不活性化して細胞伸展を抑制すること、また、細胞内で蛋白質凝集体を形成することを明らかにした。さらに、蛋白質凝集体が nuclear factor (NF)- $\kappa$ B シグナルを介して細胞増殖を抑制している可能性を見出した。

本研究により、PLEKHG2 は蛋白質間相互作用を介して、細胞形態制御に関わる Rho シグナルだけではなく、細胞増殖に関わる NF- $\kappa$ B シグナルの制御も担っていることが示唆された。今後、さらに PLEKHG2 を中心にしたシグナル経路を明らかにすることで、今まで知られていない疾病原因の解明につながる可能性や、それに伴い PLEKHG2 をターゲットとした創薬開発が進むことが期待された。

本知見は、今後の多面的な PLEKHG2 を含む RhoGEF の機能解明およびそれを標的とした薬剤の開発等にも繋がるものと考えられることから、博士論文として価値あるものと判定した。

#### 最終試験結果の要旨

西川氏の学位論文は、これまで行ってきたPLEKHG2に関する一連の研究内容をまとめ、審査付き論文として公表済みの論文に基づいていることから、本論文が学位論文として完成された内容であることを確認した。

また、公聴会において、学位論文の内容に関する事項、すなわち、FHL1のGPCRシグナルによるPLEKHG2調節機構への影響、PLEKHG2とABL1の相互作用が誘導する新規細胞増殖抑制機構について、PLEKHG2の機能や構造などに関わる創薬研究などに対する今後の研究の方向性などに関して諮問を行った。申請者からは十分な内容の回答が得られたので、博士（工学）の学位に適するものと判断し、最終試験に合格したと判定した。

#### 論文リスト

1. Nishikawa M., Sato K., Nakano S., Yamakawa H., Nagase T., Ueda H. Specific activation of PLEKHG2-induced serum response element-dependent gene transcription by four-and-a-half LIM domains (FHL) 1, but not FHL2 or FHL3. *Small GTPases* 10:1-6 (2017)

【 CiteScore: 3.71 】