

| | | | |
|---|------------------------------------|---------|------------|
| 氏名 | 趙 香琳 | | |
| 授与した学位 | 博士 | | |
| 専攻分野の名称 | 工学 | | |
| 学位授与番号 | 博乙第 | 4 5 2 3 | 号 |
| 学位授与の日付 | 2020年 9月25日 | | |
| 学位授与の要件 | 博士の論文提出者 (学位規則第4条第2項該当) | | |
| 学位論文の題目 | G-CSF 刺激により誘導される好中球分化における Gab2 の役割 | | |
| 論文審査委員 | 准教授 村上 宏 | 教授 井出 徹 | 准教授 佐藤 あやの |
| 学位論文内容の要旨 | | | |
| <p>好中球は最も多い白血球であり、体に侵入した微生物に対して最初の防御系を提供する。好中球前駆細胞 GM-I62-1 では主に Gab2 が発現し、Gab3 もわずかに存在する。GM-I62-1 を G-CSF で刺激すると、Gab2 を含む多くのタンパク質のチロシンリン酸化がおこり、数日間増殖した後、増殖停止と核の分葉化を伴う成熟好中球への分化が誘導される。Gab ファミリータンパク質の一員で、Gab2 と類似している構造を持つ Gab3 遺伝子を好中球前駆細胞に導入し、Gab3 を過剰発現させた。Gab3 過剰発現細胞である GM-Gab3 は G-CSF を含む培地の中で増殖停止が見られず、成熟好中球特有の核の分葉化も見られず好中球への分化が阻害された。</p> <p>GM-I62-1 では、G-CSF 刺激による Gab2 が一時的にチロシンリン酸化し、SHP2 と結合し、下流の MAPK のリン酸化が起こるが、20 分後にはこれらの反応の低下が見られた。ネガティブフィードバック機構が働いている事が明らかになった。一方で GM-Gab3 では、Gab3 のネガティブフィードバック機構の欠除による継続した SHP2 との結合と継続した MAPK の活性化が見られた。Gab3 の SHP2 結合部位に変異を導入した Gab3-SHP2(-)過剰発現細胞 GM-Gab3-SHP2(-)は G-CSF 含有培地で培養すると、増殖停止と核の分葉化が見られ、好中球への分化が誘導された。さらに、MEK 阻害剤により MAPK を阻害することで GM-Gab3 の G-CSF 依存の好中球への分化能が回復する事が示された。したがって、Gab3 過剰発現による GM-Gab3 細胞での G-CSF 依存の好中球への分化誘導の阻害は Gab3 タンパク質のチロシンリン酸化のネガティブフィードバック機構の欠除による継続した MAPK の活性化による事が示された。</p> <p>以上の現象を、他の好中球前駆細胞 L-G を用いても検討した。Gab3 過剰発現細胞 LG-Gab3、及び、Gab3 を通した MAPK の活性化が起こらない SHP2 結合部位変異型 Gab3(Gab3-SHP2(-))の過剰発現細胞 LG-Gab3-SHP2(-)を樹立し、G-CSF 依存の好中球への分化誘導を調べた。GM-I62-1 細胞の時と同様に、野生型 Gab3 過剰発現細胞 LG-Gab3 では G-CSF 依存の好中球への分化誘導が阻害されたが、LG-Gab3-SHP2(-)細胞ではその阻害が見られず、成熟好中球への分化誘導が観察された。</p> <p>以上の結果から、好中球前駆細胞中の Gab2 は G-CSF 刺激により一過的に SHP2-Ras-MAPK シグナル経路を活性化させるが、その後の MAPK の活性化を低下される事が G-CSF 依存の好中球分化誘導に必要である事が明らかになった。このネガティブフィードバック機構を持たない Gab3 が過剰に存在すると、継続した MAPK の活性化がおこり好中球への分化が阻害された。</p> | | | |

論文審査結果の要旨

好中球は主要な白血球のひとつで体内に侵入した細菌を貪食し殺し生体を細菌感染から守る自然免疫に関与する。成体内ではサイトカインのひとつであるG-CSFにより前駆細胞から成熟好中球へと分化が誘導される。この時の細胞内で起こる反応を解析した。G-CSFを培地に加えると、細胞内では多くのタンパク質のリン酸化が観察される。リン酸化される主要なタンパク質のひとつがスカッフールドタンパク質Gab2であった。本研究ではGab2に非常に構造が類似したタンパク質Gab3を過剰発現した細胞を人為的に作成した。この細胞ではG-CSF刺激によりGab2ではなくGab3がリン酸化を受けるとともに、G-CSFによる成熟好中球への分化が阻害された。したがって、正常なGab2を介する細胞内のシグナル伝達ではなく、Gab3を介するシグナル伝達が起こるとG-CSF依存の好中球への分化誘導が阻害されることが示された。Gab2およびGab3を介するG-CSF依存のシグナル伝達の相違を解析したところ、以下のことが明らかになった。1. 通常の細胞でのG-CSF刺激依存のGab2のチロシン残基のリン酸化は一過的で、時間経過とともに低下したが、Gab3過剰発現細胞でのGab3のチロシン残基のリン酸化は刺激後も長時間高く維持されたままだった。2. Gab2あるいはGab3の下流で活性化されるMAPKについては、Gab2を介するシグナル伝達の場合にはその活性化が一過的であったが、Gab3を介する場合には活性化が長時間維持された。以上の結果からG-CSF存在下での好中球への分化誘導にはMAPKの活性化が一過性でその後低下することが必要であり、MAPKの活性化がGab3を介した場合に高く維持されることが分化誘導を阻害していることが推定された。これを証明するため、Gab3過剰発現細胞においても、MAPKが活性化しない変異導入およびMAPKの阻害剤の添加した場合には、G-CSFによる好中球への分化誘導が回復することを確認した。この好中球分化誘導でのGabタンパク質について研究は好中球系の白血病の原因のひとつについて新たな知見を与え、今後の白血病の診断と治療についての基礎的な情報となった。

以上のことから、審査委員全員が本論文を岡山大学大学院自然科学研究科の博士（工学）の学位に値すると評価した。