

研究区分	一般共同研究	
研究課題	がん細胞の増殖における Mnk プロテインキナーゼと JSAP の機能的相互作用の解析	
研究代表者	所属・職名・氏名	大阪薬科大学薬学部・教授・福永理己郎
研究分担者	所属・職名・氏名	大阪薬科大学薬学部・講師・藤井忍
受入担当教員	職名・氏名	教授・善岡克次
【研究目的】	2つの主要な翻訳制御シグナル系である mTOR 経路と Mnk 経路の相互作用における JSAP1/JLP の機能を明らかにすることを目的として本研究を計画した。近年、タンパク合成の亢進が認められる多くの悪性腫瘍に対して、mTOR などのタンパク合成促進分子を標的とする治療法が試みられ、ラパマイシン類縁体の治験が行なわれている。本研究では、がん治療において両経路の阻害剤を併用する試みの分子的基盤を提供すると共に、新たな標的分子を同定することを目的とする。	
【研究内容・成果】	<p>Mnk1/2-ダブル KO マウス由来の胚性線維芽細胞(Mnk-DKO MEF)に野生型 Mnk1 あるいは種々の Mnk1 変異体を導入し、これらの細胞を増殖因子やストレスで刺激した際の mTOR シグナル系および Mnk シグナル系について、eIF4G(Ser1108 残基)のリン酸化や eIF4E(Ser209)のリン酸化を検出するリン酸化特異抗体を用いて解析した。その結果、Mnk1 を強制発現させた Mnk1/Mnk2 ダブルノックアウト MEF 細胞を血清で刺激すると、Mnk1-Ser209 のリン酸化に伴って eIF4G-Ser1108 のリン酸化レベルが急速に低下する現象を見出した。オカダ酸や Cyclosporin などの脱リン酸化阻害剤および各種の Mnk1 変異体を用いて Ser1108 の脱リン酸化について検討した結果、プロテイン Set/Thr ホスファターゼの活性化ではなく、Ser1105 あるいは Ser1106 残基のリン酸化によってリン酸化 Ser1108 抗体による認識が阻害されている可能性が示唆された。現在、Ser1105/1106 が Mnk1 あるいは他のプロテインキナーゼによってリン酸化される可能性について解析中である。</p> <p>一方、ヒト Sprouty2 (Spry2)は <i>Drosophila</i> Spry のホモログであり、増殖因子受容体チロシンキナーゼ情報伝達系の負の制御分子として重要な機能を担っている。最近、Spry2 の機能が Mnk1/2 によって制御されることが報告されたことから、Mnk1/2 が直接に Spry2 をリン酸化する可能性について検討した。HA-Spry2 発現ベクターを Mnk1 と共に HEK293T 細胞に導入し、HA-Spry2 の SDS-PAGE 上における移動度シフトによってリン酸化解析を行なった結果、Mnk1 の活性化に伴って細胞内で Spry2 がリン酸化される事が示唆された。Spry2 のリン酸化部位と予想される Ser112 および Ser121 の Ala 変異 Spry2 ではリン酸化レベルの低下が認められたが、変異 Spry2 でもシフトバンドが残存することから、S112/S212 以外にも Mnk1 のリン酸化部位が存在することが示唆された。今後、他のリン酸化部位の同定を行なうと共に、Mnk1 による Spry2 リン酸化の生理的意義について検討する予定である。</p>	
【成果等】	<p>【主な論文発表】</p> <p>(1) Shi Y, Frost P, Hoang B, Yang Y, <u>Fukunaga R</u>, Gera J, & Lichtenstein A: MNK kinases facilitate c-myc IRES activity in rapamycin-treated multiple myeloma cells. <i>Oncogene</i> 32, 190-197 (2013)</p> <p>(2) Gorentla BK, Krishna S, Shin J, Inoue M, Shinohara ML, Grayson JM, <u>Fukunaga R</u>, and Zhong XP: Mnk1 and 2 are dispensable for T cell development and activation but important for the pathogenesis of experimental autoimmune encephalomyelitis. <i>J. Immunol.</i> 190, 1026-1037 (2013)</p> <p>(3) Chevillard-Briet M, Quaranta M, Grézy A, Mattera L, Courilleau C, Philippe M, Mercier P, Corpet D, Lough J, Ueda T, <u>Fukunaga R</u>, Trouche D, Escaffit F: Interplay between chromatin-modifying enzymes controls colon cancer progression through Wnt signaling. <i>Hum Mol Genet.</i> 2013 Dec 11. PMID: 24287617</p> <p>【学会発表】</p> <p>(1) 新規シグナル分子としての細胞外シトクロム c の機能：西村恵子、<u>福永理己郎</u>、井上晴嗣、他（計9名）第86回日本生化学会大会、3P-126（2013年9月、横浜）</p> <p>(2) ロイシンリッチα2グリコプロテインとシトクロム c の相互作用：井上晴嗣、<u>福永理己郎</u>、他（計6名）日本薬学会第134年会、28amM-049（2014年3月、熊本）</p> <p>【その他特筆事項】</p> <p>なし</p>	