

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月20日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22700877

研究課題名（和文） 発がん性チロシンホスファターゼ SHP-2 による固形がん発症の分子機構

研究課題名（英文） Molecular mechanism of solid tumor formation by oncogenic tyrosine phosphatase SHP2

研究代表者

堤 良平 (TSUTSUMI RYOHEI)

東京大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：50435872

研究成果の概要（和文）：チロシンホスファターゼ SHP2 は小児白血病や固形がんの発症に関与するがんタンパク質であることが明らかになりつつある。本研究では SHP2 による発がんの分子機構の解明を目指し、SHP2 の基質分子を探索した。その結果、遺伝子転写機構に重要な役割を果たす核内タンパク質 parafibromin が、SHP2 の新規基質分子であることを見出した。SHP2 は parafibromin の脱リン酸化を介して発がんに必要な Wnt 経路を活性化することを示した。

研究成果の概要（英文）：Tyrosine phosphatase SHP2 has been identified as an oncoprotein, which is involved in juvenile leukemia and solid tumor. In this study, SHP2 substrates were explored to clarify the molecular mechanisms how SHP2 causes carcinogenesis. As result, I identified a nuclear protein, parafibromin, which plays important roles in gene transcription machinery, as a novel substrate of SHP2. Furthermore, dephosphorylation of parafibromin by SHP2 activates Wnt pathway, which is an important pathway in carcinogenesis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：感染腫瘍学

科研費の分科・細目：統合・新領域系 腫瘍学 腫瘍生物学

キーワード：がん チロシンホスファターゼ SHP2 parafibromin

## 1. 研究開始当初の背景

タンパク質はリン酸化を介してその構造、活性、安定性や他のタンパク質との親和性など様々な性質に変化を引き起こす。この生物学的特性によりタンパク質リン酸化は生体内での情報伝達に中心的な役割を果たしていると考えられている。タンパク質のチロシ

ン残基のリン酸化レベルは、リン酸化を触媒するチロシンキナーゼおよび脱リン酸化を触媒するチロシンホスファターゼによって調節される。チロシンキナーゼをコードする遺伝子群にはがん遺伝子が多く存在し、細胞内におけるタンパク質チロシンリン酸化の異常が細胞のがん化に重要であることを示している。一方、チロシンホスファターゼは

キナーゼとは逆に、発がんに対して抑制的に機能すると考えられる。しかし、近年、チロシンホスファターゼの一つ、SHP2 (SH2 domain-containing tyrosine phosphatase 2) ががんタンパク質として機能することが明らかになりつつある。

SHP2は細胞増殖に関与するRas/MAPK経路を正に制御することが知られており、Noonan症候群や小児白血病において機能獲得型変異が認められる。また、SHP2は*Helicobacter pylori*の感染に伴い胃上皮細胞に侵入する*H. pylori*由来CagAタンパク質との複合体形成によって活性化され、細胞内情報伝達系の攪乱を引き起こす。これらSHP2の脱制御はいずれも白血病や胃がん等の悪性腫瘍発症に深く関わる。

これまでSHP2の基質分子としてCbp/PAGやSpryなどRas/MAPK経路の調節タンパク質やFAKおよびROCK2などの細胞骨格・接着の制御分子が同定されているが、これら基質分子とSHP2機能獲得型変異による細胞がん化との関連は不明であった。また、SHP2により制御される情報伝達経路の全容に関し、未知の点が多く、上記の既知の基質分子のほかにも細胞のがん化に関与する未知のSHP2下流情報伝達経路の存在が考えられた。

## 2. 研究の目的

上記のような背景から、本研究では改めて野生型並びに機能獲得型SHP2の基質を網羅的に探索し、機能獲得型SHP2が発がんの際に脱制御すると考えられる基質分子およびその下流経路の同定、並びにSHP2により制御される情報伝達経路の全容の解明を目指した。

## 3. 研究の方法

上記目的の達成のため、本研究に先立ち、基質捕獲型・機能獲得型SHP2による基質分子の精製と質量分析装置による解析を組み合わせたSHP2基質分子の網羅的な解析法を考案した。この解析法を用いた結果、既知の基質分子を含む多数のSHP2基質分子候補が得られた。中でも、核内で遺伝子の転写制御機構に関与するPAF複合体の構成分子が多数得られた。

本研究では、得られたSHP2基質候補分子群、特に候補分子のうちPAF複合体構成分子を中心に、SHP2による情報伝達への関与を、細胞生物学的・分子生物学的並びに生化学的手法を用いて以下の検討を行った。

(1) 候補分子が細胞内でSHP2による脱リン酸化を受ける生理的基質であるかを検討した。

(2) 候補分子中の脱リン酸化を受けるチロシン残基を特定し、脱リン酸化による基質候補の分子機能への影響を検討した。

(3) 機能獲得型SHP2による細胞がん化における、SHP2依存的な候補分子脱リン酸化の寄与を、細胞増殖等への影響を中心に検討した。

## 4. 研究成果

基質捕獲型・機能獲得型SHP-2と質量分析装置を組み合わせたSHP2基質の網羅的解析により得られたSHP-2基質候補分子群のうち、核内での遺伝子転写機構に重要な役割を果たすPAF複合体に焦点を当て、SHP-2がPAF複合体機能に与える影響を検討した。

PAF複合体はPaf1、Ctr9やLeol等複数のタンパク質から構成されているが、解析の結果、SHP2はPAF複合体構成分子のうちParafibromin/Cdc73を脱リン酸化することを明らかにした。また、点変異型Parafibrominを作成、検討を行ったところ、Parafibrominは290番、293番および315番目のチロシン残基にリン酸化を受けることを明らかにし、SHP2はそれらアミノ酸残基を脱リン酸化の標的とすることを示した。

これまでに、Parafibrominは $\beta$ -cateninと結合し、多細胞生物細胞の発生・分化・増殖およびがん化に非常に重要な機能を有するWnt経路に必須の役割を持つことが示されていたが、チロシンリン酸化を受けることは全く知られていなかった。そこで、SHP2による脱リン酸化がParafibrominに与える影響を検討するため、脱リン酸化型Parafibrominを作成し、培養細胞での検討を行ったところ、脱リン酸化されたParafibrominは、 $\beta$ -cateninとの強い親和性を示し、Wnt/ $\beta$ -catenin経路を著しく活性化することを示した。このことから、SHP2はParafibrominの脱リン酸化によりWnt経路を介した細胞増殖シグナルを著しく惹起することが明らかとなった。

一方で、Parafibromin はヒストンメチルトランスフェラーゼ SUV39H1 と共働して、がん遺伝子の発現を阻害するがん抑制タンパク質様の機能を持つことが示されていた。しかし、SHP2 による脱リン酸化によって、Parafibromin の機能が SUV39H1 を介したがん抑制タンパク質様なものから、 $\beta$ -catenin との結合に起因する発がんタンパク質様なものに変化することを示した

さらに、本研究では SHP2 の細胞内局在制御機構の存在を見出し、検討を行った。Parafibromin は核に局在するタンパク質であることから、SHP2 による parafibromin の脱リン酸化は核内で起こっていると考えられた。これまで、SHP2 は細胞膜近傍での機能がよく知られていたが、SHP2 が核内にも豊富に存在することを示し、さらに SHP2 の細胞内局在が細胞の増殖シグナルにより制御されていることを明らかにした。このことから、SHP2 は時空間的な細胞内局在制御を受けており、核内における活性が増殖シグナルによって変化することが明らかとなった。

以上、本研究から、SHP2 の新規基質分子 parafibromin が同定され、SHP2 による脱リン酸化が Parafibromin のがん抑制タンパク質様機能のがんタンパク質様機能への切り替えを惹起することが示された。さらに、この核内における SHP2 の機能は SHP2 の局在制御を介して細胞増殖シグナルにより制御されていることを示した。(下図参照、Takahashi et al. 2011, Mol Cell より抜粋)。

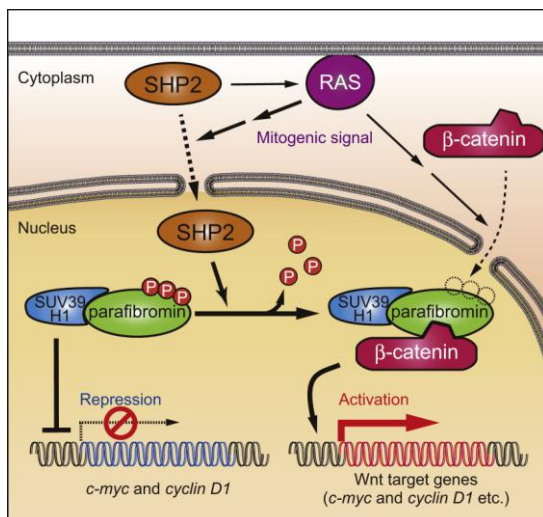


図 SHP2 による Parafibromin を介した Wnt 経路活性化

これらの知見はこれまでの研究では全く知られていなかった SHP2 による核内転写制御機構の調節を明らかにしたものであり、SHP2 機能獲得型変異が引き起こす発がんの予防や治療に対し新たな視点を提供するものである。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

- ① Takahashi A, Tsutsumi R, Kikuchi I, Obuse C, Saito Y, Seidi A, Karisch R, Fernandez M, Cho T, Ohnishi N, Rozenblatt-Rosen O, Meyerson M, Neel BG, Hatakeyama M. SHP2 Tyrosine Phosphatase Converts Parafibromin/Cdc73 from a Tumor Suppressor to an Oncogenic Driver. *Mol. Cell*, 査読有, vol. 43, 2011 年, pp45-56.  
DOI: 10.1016/j.molcel.2011.05.014

[学会発表] (計 2 件)

- ① 堤良平、高橋昌史、菊地逸平、畠山昌則、がんタンパク質 SHP2 の細胞質・細胞核間輸送、第 70 回日本癌学会学術総会、愛知県、2011 年 10 月 4 日
- ② Tsutsumi R, Takahashi A, Kikuchi I, Hatakeyama M. Regulation of intracellular distribution of SHP2 phosphatase, 1st International Symposium on Carcinogenic Spiral & 9th International Conference on Protein Phosphatase, 東京都、2011 年 2 月 1 日

[その他]

ホームページ

<http://www.microbiol.m.u-tokyo.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

堤 良平 (TSUTSUMI RYOHEI)  
東京大学・大学院医学系研究科・助教  
研究者番号：50435872

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし