

受容体型チロシンホスファターゼの機能と病態 —R3サブタイプチロシンホスファターゼを中心に

村田 陽二, 小谷 武徳, 的崎 尚

受容体型チロシンホスファターゼ (RPTP) は細胞外領域のアミノ酸配列の類似性から八つのサブタイプに分類される。R3サブタイプには五つのチロシンホスファターゼ (PTP) が属し、この五つのPTPの多くは組織特異的な発現様式を示す。これまでに、遺伝子改変マウスを用いた解析などから、各々のR3サブタイプPTPの生理機能やその作用機構が明らかとなってきた。さらに、最近、ゲノムワイド関連解析をはじめとするヒトゲノム解析により、これらPTPの遺伝子の変異や一塩基多型ががん、認知症、血小板減少症などの疾患と密接に関連することがわかってきた。また、R3サブタイプPTPのチロシンホスファターゼ活性を制御する薬剤が、がんをはじめとするヒト疾患の治療薬につながる可能性も示されつつある。

1. はじめに

ヒトゲノム解析から、これまでに107種類のチロシンホスファターゼ (PTP) の存在が示され、PTPはそのアミノ酸一次構造から細胞質型PTPと受容体型PTP (RPTP) に大別される。さらに、RPTPは21種類存在し、その細胞外領域の構造の類似性から8種類のサブタイプ (R1/R6, R2A, R2B, R3, R4, R5, R7, R8) に分類される (藤川らの稿の図1を参照)¹⁾。これらRPTPは細胞内領域に一つあるいは二つのPTPドメインを持ち、それらは細胞膜に近い側からD1ドメイン、D2ドメインと呼ばれている。二つのドメインのうちPTP活性を有するのはD1ドメインであり、一部のRPTPを除きD2ドメインは触媒活性を持たない。8種類のサブタイプのなかで、R3サブタイプには五つのPTPが属しており、それぞれが細胞外領域に複数のフィブロネクチンタイプIII様ドメインを持ち、細胞内領域には一つの

PTPドメインを持つ (藤川らの稿の図1を参照)。これまでに各々のR3サブタイプPTPの生理機能やヒト疾患との関連が報告され、さらに、最近では、これらPTPに対する阻害剤がヒト疾患の治療薬となりうる可能性が示されつつある。本稿ではこのR3サブタイプPTPの生理機能とヒト疾患との関連について紹介する。

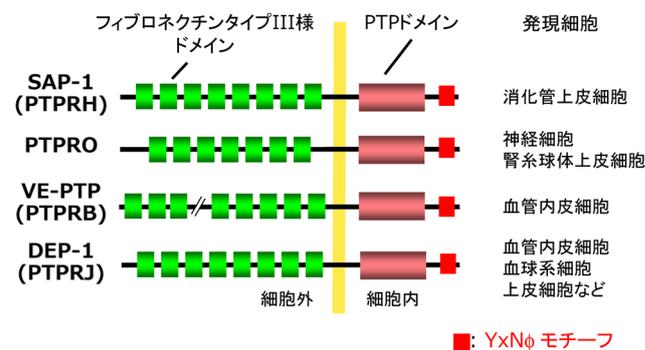


図1 R3サブタイプPTPの構造と発現様式

R3サブタイプPTPに属するSAP-1, PTPRO, VE-PTP, DEP-1は細胞内領域に一つのPTPドメインを有し、細胞外領域にSAP-1, DEP-1では8個、PTPROでは7個、VE-PTPでは16または17個のフィブロネクチンタイプIII様ドメインを持つ。さらに、これらのPTPは細胞内領域のカルボキシ末端側にYxNφ (X: 任意のアミノ酸, φ: 疎水性アミノ酸) からなる共通のアミノ酸モチーフを有している。一方、SAP-1, PTPRO, VE-PTP, DEP-1はそれぞれ異なる発現様式を示す。

神戸大学大学院医学研究科生化学・分子生物学講座シグナル統合学分野 (〒650-0017 兵庫県神戸市中央区楠町7-5-1)

Functional role of R3-subtype protein tyrosine phosphatases and their implication in human diseases

Yoji Murata, Takenori Kotani and Takashi Matozaki (Division of Molecular and Cellular Signaling, Department of Biochemistry and Molecular Biology, Kobe University Graduate School of Medicine, 7-5-1 Kusunoki-cho, Chuo-ku, Kobe, Hyogo 650-0017, Japan)

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2015.870547

© 2015 公益社団法人日本生化学会

2. R3サブタイプPTP

R3サブタイプPTPにはSAP-1 (stomach cancer-associated protein tyrosine phosphatase-1: PTPRH), PTPRO (別名GLEPP1: glomerular epithelial protein 1), VE-PTP (vascular endothelial-protein tyrosine phosphatase: PTPRB), DEP-1 (density-enhanced phosphatase-1: PTPRJ), PTPRQの五つが属する。SAP-1, PTPRO, VE-PTP, DEP-1の発現様式は非常にユニークであり, DEP-1は血管内皮細胞, 上皮細胞, 血球系細胞などさまざまな細胞での発現が認められるが, SAP-1は消化管上皮細胞, PTPROは神経細胞および腎臓の糸球体上皮細胞, VE-PTPは血管内皮細胞に特異的な発現を示す(図1)。その一方で, 筆者らは, SAP-1, PTPRO, VE-PTP, DEP-1の細胞内領域のカルボキシ末端側にチロシンを含むアミノ酸モチーフ(YxN ϕ モチーフ; Xは任意のアミノ酸, ϕ は疎水性アミノ酸)が共通に存在し(図1), *in vitro*の解析からSAP-1, PTPRO, VE-PTPのYxN ϕ モチーフがSrcファミリーキナーゼ(SFK)によりチロシンリン酸化を受け, リン酸化依存的にc-Src, Fynおよびアダプター分子Grb2のSH2(Src homology 2)ドメインと結合することを見いだしている²⁾。さらにDEP-1では, チロシンリン酸化を受けたYxN ϕ モチーフがc-SrcのSH2ドメインとの結合を担い, DEP-1によるc-Srcのカルボキシ末端のリン酸化チロシン(c-Srcのチロシンキナーゼ活性を負に制御)の脱リン酸化とそれによるc-Srcの活性化に関与することが報告された³⁾。すなわち, SAP-1, PTPRO, VE-PTP, DEP-1はそれぞれが固有の発現様式を示す一方で, YxN ϕ モチーフのチロシンリン酸化を介してSFKの活性化を制御するといった共通の作用機構を持つ可能性が高い(図2)。

一方, PTPRQは, 他のメンバーとは異なりPTP間で保

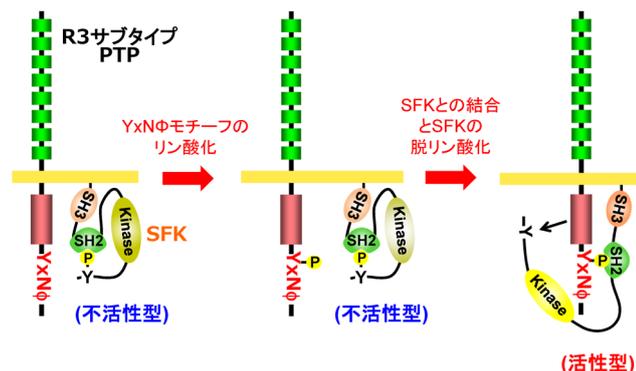


図2 R3サブタイプPTPのチロシンリン酸化とSFKの活性化
Srcファミリーキナーゼ(SFK)は, 通常, 自身のカルボキシ末端側のリン酸化チロシンとSH2ドメインとが結合した構造をとることで, 不活性化状態となっている。一方, カルボキシ末端側のリン酸化チロシンの脱リン酸化により活性型のSFKとなる。R3サブタイプPTPはYxN ϕ モチーフのチロシンにリン酸化を受け, このリン酸化YxN ϕ モチーフを介してSFKのSH2ドメインと結合する。さらに, SFKと複合体を形成したチロシンリン酸化R3サブタイプPTPはSFKのカルボキシ末端側のリン酸化チロシンの脱リン酸化を担い, SFKの活性化に寄与すると考えられる。

存されている触媒領域にあるアミノ酸の一部が他のアミノ酸に置換されているため, PTP活性を示さずホスファチジルイノシトールホスファターゼとして機能する。本稿では, このPTPRQについてはふれない。

3. SAP-1

1) SAP-1の生理機能

SAP-1はPTPドメインの配列の類似性をもとにヒト胃癌細胞株からクローニングされたRPTPである⁴⁾。マウスを用いた解析から, SAP-1は消化管に局限した発現を示し, 胃, 小腸および大腸の消化管上皮細胞のアピカル面の微絨毛に局在することが明らかとなった⁵⁾。SAP-1の生理機能はいまだ十分に明らかではないが, 培養細胞でのSAP-1の過剰発現が増殖因子を介したMAPK (mitogen-activated protein kinase)の活性化の抑制やカスパーゼ依存性の細胞死の誘導を通じて細胞増殖を抑制し^{6,7)}, また, 接着斑に関連するタンパク質FAK (focal adhesion kinase), p130Cas, paxillinなどの脱リン酸化を促しアクチン骨格系の再編成を負に制御することが示されている⁶⁾。一方, *Sap1*遺伝子破壊マウス(*Sap1*^{-/-}マウス)は正常に生まれ, 外見上明らかな異常は認められず, 腸管の絨毛構造や上皮細胞の増殖, 形態, 細胞間接着, 微絨毛の形態や数において野生型マウスとの違いを認めなかった⁵⁾。また, 血清中のグルコース, 総コレステロール, Na⁺, Cl⁻, Ca²⁺, 鉄分などの濃度に関しても野生型マウスと*Sap1*^{-/-}マウスでは顕著な差を認めず, 腸上皮細胞による食物の消化や栄養素, 電解質の吸収に明らかな異常はないものと考えられた。しかしながら, 消化管上皮細胞ではR3サブタイプPTPのDEP-1などを含む他のRPTPが発現していることから, *Sap1*^{-/-}マウスでは他のRPTPがSAP-1の機能を補完して消化管上皮細胞の構造や機能が維持されている可能性がある。今後, SAP-1の生理機能を理解する上で, DEP-1を含め他のRPTPとの二重遺伝子破壊マウスなどの解析が有効であるかもしれない。

2) SAP-1とがん

培養細胞でのSAP-1の過剰発現が細胞増殖や細胞骨格の再構成を負に制御する一方で, ヒト大腸がん組織やヒト大腸がん由来株化細胞においてSAP-1の高発現が認められ, SAP-1の発現と細胞がん化との関連性が想定されていた^{4,8)}。筆者らは腸管での腫瘍形成へのSAP-1の関与を*Sap1*^{-/-}マウスを用いた解析から見いだした⁵⁾。大腸がんモデルマウスである*Apc*^{Min/+}マウスと*Sap1*^{-/-}マウスとの交配により得られた*Apc*^{Min/+}*Sap1*^{-/-}マウスでは, 小腸に形成されたアデノーマの数に減少傾向を認めた⁵⁾。さらに, 大腸および小腸に形成された直径2mm以上のアデノーマの数が*Apc*^{Min/+}マウスに比べ*Apc*^{Min/+}*Sap1*^{-/-}マウスにおいて有意に減少し, SAP-1がアデノーマの成長や生存を促進的に制御している可能性が示唆された。*Apc*^{Min/+}マウスでのア

デノーマの形成には細胞増殖の制御に関わる β -cateninの細胞質での安定化とそれによる核での β -cateninと転写因子TCF (T-cell factor) との複合体形成が重要である。しかし、*Sap1*^{-/-}マウスでは β -cateninの細胞質や核での発現量の増加は認められず、 β -catenin/TCFシグナルへのSAP-1の関与は低いと考えられた⁵⁾。SAP-1によるアデノーマ形成やその成長や生存の詳細な制御機構は不明だが、後述する他のR3サブタイプPTPのVE-PTPやDEP-1が細胞の増殖、がん化、生存やがん細胞の転移の制御に関与するSFKの活性化を促進することから、SAP-1もSFKの活性化を促進し腫瘍の成長や生存を正に制御している可能性がある。今後、がん細胞におけるSAP-1高発現の生理的意義やその制御機構についてさらなる解析が求められる。

4. PTPRO

1) PTPROの生理機能

受容体型のPTPROは神経系、腎臓に高度な発現が認められるが、PTPROにはスプライシングにより細胞外領域を有しないPTPROt (別名: PTP ϕ) が存在し、マクロファージ、B細胞、骨芽細胞に特異的な発現を示す。本稿では受容体型PTPROの生理機能について紹介する。

i. 神経系における生理機能

ニワトリおよびマウスを用いた解析などから、PTPROは神経細胞の生存、軸索伸長、軸索の枝分かれやガイダンスの制御に関与することが示されている。ニワトリでは胎仔期の神経軸索が成長する時期に一致してPTPROの発現が増加し、神経細胞の軸索や成長円錐にPTPROの濃縮が認められる。一方、ニワトリ胎仔の運動神経でのPTPROのノックダウンにより運動神経の軸索線維の脱東化とガイダンスに異常が生じた⁹⁾。また、PTPROの基質分子の検索から受容体型チロシンキナーゼEphが基質分子として同定され、PTPROがEphを脱リン酸化することでEphの活性化を抑制し、網膜神経節細胞の視蓋投射を制御することが報告された¹⁰⁾。マウスにおいても、PTPROの欠損により侵害受容性神経細胞の後根神経節での減少と脊髄での侵害受容性神経細胞と固有受容性神経細胞の軸索投射異常が生じ¹¹⁾、また、三叉神経細胞の軸索成長の促進と分枝の増加が認められた¹²⁾。さらに、この三叉神経細胞の軸索の成長と分岐の増加は受容体型チロシンキナーゼTrkBおよびc-RetのPTPROによる脱リン酸化の障害によることが示唆されている¹²⁾。また、成体マウス脳において、PTPROは嗅球、海馬、嗅結節に限局した発現を示し、嗅球では介在神経細胞の樹状突起での高度な発現が認められ¹³⁾、これら介在神経細胞の生存や樹状突起の形態形成の制御に関与している可能性もある。

ii. 腎臓における生理機能

腎臓において、PTPROは糸球体上皮細胞の足突起のアピカル面に限局した発現を示す¹⁴⁾。糸球体上皮細胞は毛細血管を囲むように足突起を他の糸球体上皮細胞の足突起と

かみ合わせながら糸球体全体を覆い、血液の濾過を担う40 nmの幅からなる濾過スリットを形成する。*Ptpro*^{-/-}マウスでは糸球体上皮細胞の足突起の形態異常、濾過スリットの面積の減少、濾過効率の低下と高血圧傾向が認められ、PTPROが糸球体上皮細胞の形態や機能を制御し、糸球体内の圧力(血圧)と濾過率の恒常性の維持に関与すると考えられている¹⁴⁾。一方、この*Ptpro*^{-/-}マウスの示す表現型は糸球体上皮細胞でのタンパク質チロシンリン酸化の異常に起因すると考えられるがその詳細は明らかではない。

2) PTPROとヒト疾患との関連

ゲノムワイド関連解析から、タンパク尿、低アルブミン血症、浮腫を主な症状とするステロイド抵抗性特発性ネフローゼ症候群と強い相関性を有する2種類の遺伝子変異がトルコの2家系のPTPRO遺伝子に見いだされている¹⁵⁾。2種類の変異はともにエクソンスキップを引き起こすプライス変異であり、この変異により機能的なPTPROの産生が起こらない。このことがステロイド抵抗性特発性ネフローゼ症候群の病態形成の一因となるのではないかと考えられている。また、統合失調症スペクトラムまたは躁うつ病を伴う認知障害の患者を対象としたゲノムワイド関連解析から、PTPROのイントロン領域に学習・記憶障害と強い相関を示す3種の一塩基多型が認められ、認知障害の病態とPTPROの関連性も示唆されている¹⁶⁾。

5. VE-PTP

1) VE-PTPによる血管新生制御

VE-PTPは血管内皮細胞特異的に発現し、*Veptp*^{-/-}マウスは血管網形成不全により胎生致死を示す^{17, 18)}。胎仔期での血管形成は脈管形成と呼ばれる中胚葉細胞から発生した血管内皮細胞による原始血管叢の形成、その後の血管新生の過程である原始血管叢のリモデリング(血管網の再構築と動脈静脈形成と分化)からなる。この脈管形成と血管新生により、最終的に階層性を持った動脈、静脈、毛細血管からなる機能的な血管網が全身細部に張り巡らされる。*Veptp*^{-/-}マウスでは原始血管叢の形成を認めたが、そのリモデリングの異常により階層性を持つ血管網の形成が認められなかった^{17, 18)}。すなわち、VE-PTPは血管新生の制御に重要なRPTPであると考えられている。

VE-PTPは受容体型チロシンキナーゼTie2, VEGFR2 (vascular endothelial growth factor receptor 2)、細胞間接着分子VE-Cadherinの脱リン酸化を介して血管内皮細胞の機能を制御することが示されている¹⁹⁻²¹⁾。Tie2は血管新生での血管のリモデリング、成熟、構造の安定化などに関わるが、VE-PTPはTie2と細胞外領域を介して直接結合し、Tie2を脱リン酸化しその活性を負に制御する¹⁹⁾。これにより血管のリモデリングでのTie2を介した血管内皮細胞の増殖をVE-PTPが抑制的に制御すると考えられている。

VEGFR2は脈管形成と血管新生の両方に重要であり、血管内皮細胞の発生、その後の内皮細胞の増殖、移動、管腔形成などに関与する。最近、VE-PTPはVEGF刺激により活性化したVEGFR2とTie2を介して細胞間接着部位で三者複合体を形成し、VEGFR2の脱リン酸化を担いその機能を負に制御することが報告された²⁰⁾。また、VE-Cadherinは内皮細胞の細胞間接着を担い血管の透過性に加え、血管新生における内皮細胞の管腔形成、血管構造の安定化などに重要であるが、VE-PTPはVE-Cadherinと細胞外領域を介して互いに結合し、VE-Cadherinやその結合タンパク質の脱リン酸化を担い、VE-Cadherin依存性の細胞間接着を高める²¹⁾。加えて、筆者らはVE-PTPが細胞接着分子インテグリンと協調的に作用し、血管内皮細胞の運動、細胞進展を促進的に制御すること、さらに、この制御にはVE-PTPによるインテグリン依存性のSFKの活性化の促進が関与することを見いだしている²²⁾。インテグリンは脈管形成や血管新生における血管構造の安定化に加え血管内皮細胞の増殖や運動、生存に重要な役割を果たしている。すなわち、VE-PTPはTie2、VEGFR、VE-Cadherin、インテグリンの機能を統合的に制御し、血管新生を適切に制御しているとも考えられる。

2) VE-PTPによるシェアストレス応答制御

血管内皮細胞は血流と接することから血流により生じる力学的な刺激の一つシェアストレス（ずり応力）を受ける。シェアストレスは血管内皮細胞の増殖、生存、運動、細胞の形態変化などを制御し、血管の恒常性の維持や血管新生などに関与することが示唆されている。最近、筆者らはVE-PTPの細胞内局在がシェアストレスにより変化すること、また、VE-PTPがシェアストレスに対する血管内皮細胞の細胞応答の制御に関与することを見いだしている²³⁾。

通常の静置培養下では、マウス由来血管内皮細胞株においてVE-PTPは細胞全体に分布するが、シェアストレスを受けると流れの下流側の細胞辺縁部へ局在化した（図3）。

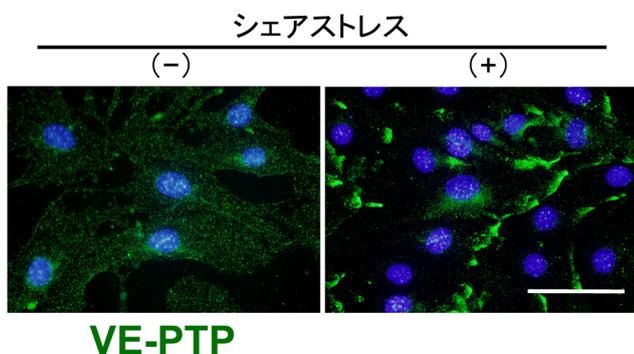


図3 シェアストレスによるVE-PTPの局在変化
通常の静置培養下(-)では、VE-PTPは細胞全体にその発現が認められる。一方、シェアストレス下(+：培地を図の左から右方向に流す)では、VE-PTPは培地の流れの下流側の細胞辺縁部に局在化する。緑：VE-PTP、青：核、Bar：50 μm。

さらに、この局在化にはインテグリンと細胞外基質との相互作用が関与するとともに、種々のシグナル分子のドミナントネガティブ変異体の過剰発現および阻害剤を用いた解析から低分子量Gタンパク質Cdc42の活性化とアクチン骨格の再編成が重要であることが確認された。また、VE-PTPは静置培養下およびシェアストレス下において細胞膜表面から細胞質内へとエンドサイトーシスを受けるが、膜タンパク質のエンドサイトーシスやリサイクリングの制御に関わる低分子量Gタンパク質Rab5とArf6のドミナントネガティブ変異体の過剰発現により、シェアストレス依存性のVE-PTPの局在変化が顕著に抑制された。一方、血管内皮細胞はシェアストレスを受けるとその流れと同一方向に細胞伸展を示すが、siRNAによりVE-PTPのノックダウンを行ったヒト臍帯静脈由来血管内皮細胞ではこのシェアストレス依存性の細胞進展の著明な抑制が認められた。すなわち、VE-PTPはシェアストレスによるインテグリンを介したCdc42の活性化とアクチン骨格の再編成、また、Rab5、Arf6を介したエンドサイトーシスとリサイクリングを受けることで細胞内局在を変化させ、血管内皮細胞の細胞伸展を促進的に制御していると考えられる（図4）。

3) VE-PTPとがん

最近、VE-PTPが血管肉腫のがん抑制遺伝子の一つであることが報告された²⁴⁾。血管肉腫の患者においてナンセンス変異、スプライシング変異、フレームシフト変異、ミスセンス変異といった種々の変異がVE-PTP遺伝子に見いだされた²⁴⁾。ミスセンス変異はVE-PTPの細胞外領域およびPTPドメインに認められたが、VE-PTPの生理機能に与える影響については解析がなされていない。一方、血管肉腫の患者ではVE-PTPの両対立遺伝子にそれぞれ異なる変異があり、対立遺伝子の一方もしくは両方からVE-PTPの一部を欠失した変異型VE-PTPが生じることが示された。すなわち、VE-PTPの両対立遺伝子から変異型VE-PTPが生じることが血管肉腫の病態形成に重要ではないかと考えられる。

一方、マウス由来乳がん細胞を乳腺に移植した腫瘍モデルマウスにおいて、VE-PTPの特異的阻害剤AKB-9778の投与が乳腺での腫瘍の増殖や肺への転移の抑制、また、放射線治療効果を増強させることが報告された²⁵⁾。このAKB-9778による抗腫瘍効果はVE-PTPのPTP活性阻害によるTie2の活性化とそれによる腫瘍血管の正常化（血管の成熟、構造の安定化、透過性の低下など）に関与する可能性が示された。腫瘍血管は正常血管に比べ透過性が高く血管径が不均一であり大中小の階層性を持たず血管の走行も乱雑なものとなっている。そのためがん組織では血管が豊富にあるにも関わらず血流量が減少し、低酸素状態による放射線治療の有効性や抗がん剤の浸透性の低下につながると考えられている。したがって、VE-PTPを標的とした薬剤は腫瘍血管の正常化を狙った新たな抗がん剤として期待される。

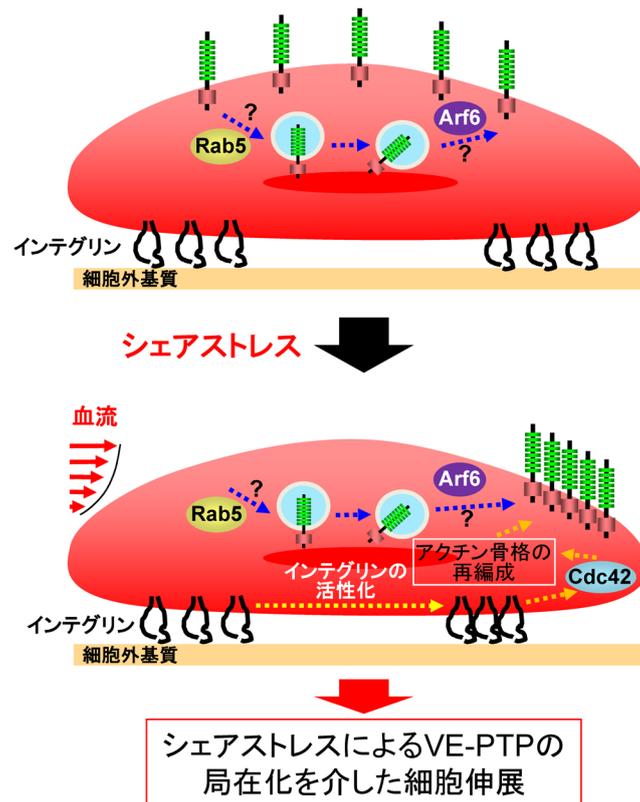


図4 シェアストレスによるVE-PTPの局在化のメカニズムと細胞伸展制御

通常の静置培養下において、VE-PTPは細胞全体に分布し、常にRab5およびArf6を介したエンドサイトーシスやリサイクリングを受けていると考えられる（上図）。一方、シェアストレスにより、インテグリンの活性化、その下流でのCdc42の活性化、さらにはアクチン骨格の再編成、また、VE-PTPのRab5およびArf6を介したエンドサイトーシス、リサイクリングにより、VE-PTPは流れの下流側の細胞辺縁部へと局在化する。このVE-PTPの局在化がシェアストレス依存的な細胞伸展の制御に関与すると考えられる（下図）。

6. DEP-1

1) DEP-1の生理機能

DEP-1はヒト線維芽細胞において細胞密度が高まるにつれその発現量が上昇することから、コンタクトインヒビション（接触阻止）の制御に関連すると考えられていた²⁶⁾。その後、DEP-1の発現は線維芽細胞、上皮細胞、血管内皮細胞、血球系細胞などさまざまな細胞に認められ、これら細胞の増殖、運動、接着、分化などの多様な細胞機能の制御に関与することが明らかとなってきた。とりわけ、*Dep1* 遺伝子改変マウスを用いた解析から血管内皮細胞、B細胞などの血球系細胞の機能制御におけるDEP-1の重要性が示されている。本稿では血管内皮細胞と血球系細胞でのDEP-1の生理機能について紹介する。

i. 血管内皮細胞における生理機能

DEP-1のPTPドメインをGFP (green fluorescent protein) に置換したノックインマウスは、胎仔期での血管内皮細胞の増殖亢進、血管のリモデリングおよび枝分かれの障害や血管の肥大化が認められ、DEP-1が血管新生の制御分子であることが示唆された²⁷⁾。さらに、DEP-1は血管内皮細胞の細胞間接着部位にその発現が認められ、VEGFR2の脱リン酸化とその下流のErk (extracellular signal-regulated

kinase) の不活性化を通じて、VE-Cadherinを介したVEGF依存性の細胞増殖の抑制を担う²⁸⁾。その一方で、DEP-1はVEGFR2を介したc-Srcの活性化を促し、VEGF依存性の細胞の生存や細胞透過性を促進的に制御する^{3, 29)}。このc-Srcの活性化は前述したVEGF刺激によりチロシンリン酸化を受けたDEP-1によるc-Srcの脱リン酸化によることが示された(図2)³⁾。また、DEP-1とそのリガンド分子である血管新生抑制因子Thrombospondin-1との結合が、DEP-1のPTP活性を上昇させ、VEGFR2およびErkのリン酸化の減少を伴った血管内皮細胞の増殖抑制につながるということが報告されている³⁰⁾。すなわち、DEP-1は血管内皮細胞の増殖、生存、細胞間接着を制御するRPTPであると考えられる。一方、DEP-1をまったく発現しない*Dep1*^{-/-}マウスは、正常に生まれ、ノックインマウスと同様の表現型を示さないとする報告もあるが³¹⁾、この表現型の違いを生み出す原因は明らかとはなっていない。

ii. T細胞、B細胞、マクロファージにおける生理機能

DEP-1はT細胞、B細胞やマクロファージ、血小板などの血球系細胞に発現が認められる。T細胞では、DEP-1の発現量はT細胞の活性化に伴い上昇し³²⁾、ヒトT細胞由来Jurkat細胞でのDEP-1の過剰発現はT細胞受容体を介したJurkat細胞の活性化を抑制した³³⁾。また、この抑制的制

御にはT細胞受容体の下流分子であるPLC (phospholipase C) γ およびLAT (linker for activation of T cells) のDEP-1による脱リン酸化が関与することが示された³³⁾。一方、抗DEP-1抗体によるDEP-1のクロスリンクが抗CD3抗体刺激によるT細胞の活性化を促進した³⁴⁾。すなわち、DEP-1はT細胞受容体を介したT細胞の活性化の制御に関与すると考えられている。

また、膜貫通領域をコードするエクソンの欠損により分泌型DEP-1を産生する*Dep1*遺伝子改変マウス (*Dep1*^{TM-TM}-マウス) ではわずかにB細胞の分化障害が認められ、類似した表現型を示す血球系細胞特異的に発現するRPTPであるCD45 (別名PTPRC) の遺伝子破壊マウス (*Cd45*^{-/-}マウス) との二重遺伝子改変マウス (*Dep1*^{TM-TM}-*Cd45*^{-/-}マウス) では、より強いB細胞の分化障害、末梢血でのB細胞の減少、B細胞受容体を介したB細胞の活性化障害が生じた³⁵⁾。さらに、*Dep1*^{TM-TM}-*Cd45*^{-/-}マウス由来マクロファージではFc受容体を介した貪食活性の減弱、サイトカイン産生の減少が認められた。また、*Dep1*^{TM-TM}-マウスではインテグリンやGタンパク質共役受容体を介した血小板の活性化が減弱しており、出血傾向と血栓形成の遅れを示した³⁶⁾。すなわち、DEP-1はB細胞、マクロファージ、血小板の分化や活性化を促進的に制御すると考えられる。興味深いことに、これらの*Dep1*遺伝子改変マウスで認められた表現型はDEP-1によるLckなどのSFKの活性化の障害であることが示されている^{35,36)}。

2) DEP-1とヒト疾患との関連

これまでに、ヒトDEP-1ががん抑制遺伝子であることを示唆する報告が数多くなされている。Ruivenkampらにより*Dep1*がマウスの大腸がん感受性遺伝子*Sccl*に相当すること、また、ヒト大腸がん、乳がん、肺がんにおいてDEP-1遺伝子座を含む領域にLOH (loss of heterozygosity) が、さらに大腸がんではDEP-1の細胞外領域にミスセンス変異が存在することが見いだされた³⁷⁾。さらに、ヒト大腸がん、肺がん、頭頸部がん、甲状腺がんなどにおいてDEP-1のLOH、発現量の低下や、DEP-1の細胞外領域または細胞内領域にこれらがんとの強い相関性を示すアミノ酸置換を伴う複数の一塩基多型が他のグループからも報告されている³⁸⁾。一方、*Dep1*^{-/-}マウスでは大腸がんなどの腫瘍形成は認められず³¹⁾、*Dep1*単独の遺伝子異常のみでは腫瘍形成へとは至らないのかもしれない。

がん以外に、抗血液凝固剤ヘパリンの投与により血小板数の減少と血栓症を発症する疾患であるヘパリン起因性血小板減少症とDEP-1の細胞外領域にアミノ酸置換を伴う2種の一塩基多型とが高い相関性を示すことが見いだされており、この疾患の病態形成にDEP-1の関与が示唆されている³⁹⁾。

7. おわりに

本稿ではR3サブタイプPTPに属するVE-PTP, SAP-1, PT-

PRO, DEP-1の生理機能と病態との関連について紹介した。遺伝子改変マウスや培養細胞を用いた解析などにより、これらPTPの生理機能やその作用機構が理解されつつあり、さらに、ゲノム解析により遺伝子異常のヒト疾患への関与が示されつつある。また、VE-PTPの阻害剤が抗がん剤や病的な脈絡膜血管新生により生じる滲出型加齢黄斑変性などの治療薬となりうる可能性が疾患モデルマウスを用いた解析から示されている^{25,40)}。一方で、R3サブタイプPTPの活性化制御機構、リガンド分子、基質分子、メンバー間での共通の作用機構や生理機能については十分に明らかとはなっていない。加えて、ヒト疾患との関連性が指摘された遺伝子変異や一塩基多型がそれぞれのPTPに与える影響についても不明な点が多い。今後、さらなる解析により、R3サブタイプPTPの生理機能やその作用機構の全容、ヒト疾患との関連性と病態的意義が解明されるとともに、これらPTPを標的とした薬剤がヒト疾患の治療薬となることが期待される。

文 献

- 1) Tonks, N.K. (2006) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **7**, 833-846.
- 2) Murata, Y., Mori, M., Kotani, T., Supriatna, Y., Okazawa, H., Kusakari, S., Saito, Y., Ohnishi, H., & Matozaki, T. (2010) *Genes Cells*, **15**, 513-524.
- 3) Spring, K., Chabot, C., Langlois, S., Lapointe, L., Trinh, N.T., Caron, C., Hebda, J.K., Gavard, J., Elchebly, M., & Royal, I. (2012) *Blood*, **120**, 2745-2756.
- 4) Matozaki, T., Suzuki, T., Uchida, T., Inazawa, J., Ariyama, T., Matsuda, K., Horita, K., Noguchi, H., Mizuno, H., Sakamoto, C., & Kasuga, M. (1994) *J. Biol. Chem.*, **269**, 2075-2081.
- 5) Sadakata, H., Okazawa, H., Sato, T., Supriatna, Y., Ohnishi, H., Kusakari, S., Murata, Y., Ito, T., Nishiyama, U., Minegishi, T., Harada, A., & Matozaki, T. (2009) *Genes Cells*, **14**, 295-308.
- 6) Noguchi, T., Tsuda, M., Takeda, H., Takada, T., Inagaki, K., Yamao, T., Fukunaga, K., Matozaki, T., & Kasuga, M. (2001) *J. Biol. Chem.*, **276**, 15216-15224.
- 7) Takada, T., Noguchi, T., Inagaki, K., Hosooka, T., Fukunaga, K., Yamao, T., Ogawa, W., Matozaki, T., & Kasuga, M. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 34359-34366.
- 8) Seo, Y., Matozaki, T., Tsuda, M., Hayashi, Y., Itoh, H., & Kasuga, M. (1997) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **231**, 705-711.
- 9) Stepanek, L., Stoker, A.W., Stoeckli, E., & Bixby, J.L. (2005) *J. Neurosci.*, **25**, 3813-3823.
- 10) Shintani, T., Ihara, M., Sakuta, H., Takahashi, H., Watakabe, I., & Noda, M. (2006) *Nat. Neurosci.*, **9**, 761-769.
- 11) Gonzalez-Brito, M.R. & Bixby, J.L. (2009) *Mol. Cell. Neurosci.*, **42**, 458-465.
- 12) Gatto, G., Dudanova, I., Suetterlin, P., Davies, A.M., Drescher, U., Bixby, J.L., & Klein, R. (2013) *J. Neurosci.*, **33**, 5399-5410.
- 13) Kotani, T., Murata, Y., Ohnishi, H., Mori, M., Kusakari, S., Saito, Y., Okazawa, H., Bixby, J.L., & Matozaki, T. (2010) *J. Comp. Neurol.*, **518**, 119-136.
- 14) Wharram, B.L., Goyal, M., Gillespie, P.J., Wiggins, J.E., Kershaw, D.B., Holzman, L.B., Dysko, R.C., Saunders, T.L., Samuelson, L.C., & Wiggins, R.C. (2000) *J. Clin. Invest.*, **106**, 1281-1290.
- 15) Ozaltin, F., Ibsirlioglu, T., Taskiran, E.Z., Baydar, D.E., Kaymaz, F., Buyukcelik, M., Kilic, B.D., Balat, A., Iatropoulos, P., Asan,

- E., Akarsu, N.A., Schaefer, F., Yilmaz, E., Bakkaloglu, A., & PodoNet Consortium. (2011) *Am. J. Hum. Genet.*, **89**, 139–147.
- 16) LeBlanc, M., Kulle, B., Sundet, K., Agartz, I., Melle, I., Djurovic, S., Frigessi, A., & Andreassen, O.A. (2012) *J. Psychiatr. Res.*, **46**, 271–278.
- 17) Dominguez, M.G., Hughes, V.C., Pan, L., Simmons, M., Daly, C., Anderson, K., Noguera-Troise, I., Murphy, A.J., Valenzuela, D.M., Davis, S., Thurston, G., Yancopoulos, G.D., & Gale, N.W. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 3243–3248.
- 18) Baumer, S., Keller, L., Holtmann, A., Funke, R., August, B., Gamp, A., Wolburg, H., Wolburg-Buchholz, K., Deutsch, U., & Vestweber, D. (2006) *Blood*, **107**, 4754–4762.
- 19) Winderlich, M., Keller, L., Cagna, G., Broermann, A., Kamenyeva, O., Kiefer, F., Deutsch, U., Nottebaum, A.F., & Vestweber, D. (2009) *J. Cell Biol.*, **185**, 657–671.
- 20) Hayashi, M., Majumdar, A., Li, X., Adler, J., Sun, Z., Vertuani, S., Hellberg, C., Mellberg, S., Koch, S., Dimberg, A., Koh, G.Y., Dejana, E., Belting, H.G., Affolter, M., Thurston, G., Holmgren, L., Vestweber, D., & Claesson-Welsh, L. (2013) *Nat. Commun.*, **4**, 1672.
- 21) Nottebaum, A.F., Cagna, G., Winderlich, M., Gamp, A.C., Linnepe, R., Polaschegg, C., Filippova, K., Lyck, R., Engelhardt, B., Kamenyeva, O., Bixel, M.G., Butz, S., & Vestweber, D. (2008) *J. Exp. Med.*, **205**, 2929–2945.
- 22) Mori, M., Murata, Y., Kotani, T., Kusakari, S., Ohnishi, H., Saito, Y., Okazawa, H., Ishizuka, T., Mori, M., & Matozaki, T. (2010) *J. Cell. Physiol.*, **224**, 195–204.
- 23) Mantilidewi, K.I., Murata, Y., Mori, M., Otsubo, C., Kotani, T., Kusakari, S., Ohnishi, H., & Matozaki, T. (2014) *J. Biol. Chem.*, **289**, 6451–6461.
- 24) Behjati, S., Tarpey, P.S., Sheldon, H., Martincorena, I., Van Loo, P., Gundem, G., Wedge, D.C., Ramakrishna, M., Cooke, S.L., Pillay, N., Vollen, H.K., Papaemmanuil, E., Koss, H., Bunney, T.D., Hardy, C., Joseph, O.R., Martin, S., Mudie, L., Butler, A., Teague, J.W., Patil, M., Steers, G., Cao, Y., Gumbs, C., Ingram, D., Lazar, A.J., Little, L., Mahadeshwar, H., Protopopov, A., Al Sanna, G.A., Seth, S., Song, X., Tang, J., Zhang, J., Ravi, V., Torres, K.E., Khatri, B., Halai, D., Roxanis, I., Baumhoer, D., Tirabosco, R., Amary, M.F., Boshoff, C., McDermott, U., Katan, M., Stratton, M.R., Futreal, P.A., Flanagan, A.M., Harris, A., & Campbell, P.J. (2014) *Nat. Genet.*, **46**, 376–379.
- 25) Goel, S., Gupta, N., Walcott, B.P., Snuderl, M., Kesler, C.T., Kirkpatrick, N.D., Heishi, T., Huang, Y., Martin, J.D., Ager, E., Samuel, R., Wang, S., Yazbek, J., Vakoc, B.J., Peterson, R.T., Padera, T.P., Duda, D.G., Fukumura, D., & Jain, R.K. (2013) *J. Natl. Cancer Inst.*, **105**, 1188–1201.
- 26) Ostman, A., Yang, Q., & Tonks, N.K. (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**, 9680–9684.
- 27) Takahashi, T., Takahashi, K., St John, P.L., Fleming, P.A., Tomemori, T., Watanabe, T., Abrahamson, D.R., Drake, C.J., Shirasawa, T., & Daniel, T.O. (2003) *Mol. Cell Biol.*, **23**, 1817–1831.
- 28) Grazia Lampugnani, M., Zanetti, A., Corada, M., Takahashi, T., Balconi, G., Breviario, F., Orsenigo, F., Cattelino, A., Kessler, R., Daniel, T.O., & Dejana, E. (2003) *J. Cell Biol.*, **161**, 793–804.
- 29) Chabot, C., Spring, K., Gratton, J.P., Elchebly, M., & Royal, I. (2009) *Mol. Cell Biol.*, **29**, 241–253.
- 30) Takahashi, K., Mernaugh, R.L., Friedman, D.B., Weller, R., Tsuboi, N., Yamashita, H., Quaranta, V., & Takahashi, T. (2012) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 1985–1990.
- 31) Trapasso, F., Drusco, A., Costinean, S., Alder, H., Aqeilan, R.I., Iuliano, R., Gaudio, E., Raso, C., Zanasi, N., Croce, C.M., & Fusco, A. (2006) *DNA Cell Biol.*, **25**, 376–382.
- 32) Tangye, S.G., Phillips, J.H., Lanier, L.L., de Vries, J.E., & Aversa, G. (1998) *J. Immunol.*, **161**, 3249–3255.
- 33) Baker, J.E., Majeti, R., Tangye, S.G., & Weiss, A. (2001) *Mol. Cell Biol.*, **21**, 2393–2403.
- 34) de la Fuente-Garcia, M.A., Nicolas, J.M., Freed, J.H., Palou, E., Thomas, A.P., Vilella, R., Vives, J., & Gaya, A. (1998) *Blood*, **91**, 2800–2809.
- 35) Zhu, J.W., Brdicka, T., Katsumoto, T.R., Lin, J., & Weiss, A. (2008) *Immunity*, **28**, 183–196.
- 36) Senis, Y.A., Tomlinson, M.G., Ellison, S., Mazharian, A., Lim, J., Zhao, Y., Kornerup, K.N., Auger, J.M., Thomas, S.G., Dhanjal, T., Kalia, N., Zhu, J.W., Weiss, A., & Watson, S.P. (2009) *Blood*, **113**, 4942–4954.
- 37) Ruivenkamp, C.A., van Wezel, T., Zanon, C., Stassen, A.P., Vlcek, C., Csikos, T., Klous, A.M., Tripodis, N., Perrakis, A., Boerigter, L., Groot, P.C., Lindeman, J., Mooi, W.J., Meijijer, G.A., Scholten, G., Dauwerse, H., Paces, V., van Zandwijk, N., van Ommen, G.J., & Demant, P. (2002) *Nat. Genet.*, **31**, 295–300.
- 38) Julien, S.G., Dube, N., Hardy, S., & Tremblay, M.L. (2011) *Nat. Rev. Cancer*, **11**, 35–49.
- 39) Rollin, J., Pouplard, C., Gratacap, M.P., Leroux, D., May, M.A., Aupart, M., Gouilleux-Gruart, V., Payrastre, B., & Gruel, Y. (2012) *Blood*, **120**, 1309–1316.
- 40) Shen, J., Frye, M., Lee, B.L., Reinardy, J.L., McClung, J.M., Ding, K., Kojima, M., Xia, H., Seidel, C., Lima e Silva, R., Dong, A., Hackett, S.F., Wang, J., Howard, B.W., Vestweber, D., Kontos, C.D., Peters, K.G., & Campochiaro, P.A. (2014) *J. Clin. Invest.*, **124**, 4564–4576.

著者寸描

●村田 陽二 (むらた ようじ)

神戸大学大学院医学研究科准教授。

■略歴 1993年神戸大学理学部卒業, 2000年大阪大学大学院医学系研究科博士課程修了, ポスドクを経て05年群馬大学生体調節研究所助手, 07年同研究所助教, 10年神戸大学大学院医学研究科助教, 12年より現職。

■研究テーマ 膜型蛋白質を介した蛋白質チロシンリン酸化シグナルによる生体機能制御機構の解析。

●小谷 武徳 (こたに たけのり)

神戸大学大学院医学研究科助教。

■略歴 2001年東京理科大学基礎工学部卒業, 07年大阪大学大学院理学研究科博士課程修了, ポスドクを経て12年より現職。

■研究テーマ 蛋白質チロシンリン酸化シグナルによる生体機能制御機構の解析, 成熟細胞の寿命制御機構の解析。

●的崎 尚 (まとぎ たかし)

神戸大学大学院医学研究科教授。

■略歴 1981年神戸大学医学部卒業, 88年同大学院医学系研究科博士課程修了, 88年から米国ミシガン大学医学部生理学教室に留学, 90年神戸大学医学部附属病院医員, 助手, 98年大阪大学大学院医学系研究科助手, 助教授を経て, 2000年群馬大学生体調節研究所教授, 10年より現職。

■研究テーマ 高次生命機能におけるチロシンリン酸化シグナル伝達系と新規細胞間シグナル伝達系の研究, 成熟細胞の寿命制御機構の解析。