

# 核内 c-Abl チロシンキナーゼの新規機能： 核内 F-actin bundle の形成

千葉大学大学院医学薬学府 4年博士課程4年 青山和正

非受容体型チロシンキナーゼ c-Abl は、主に細胞質に局在し、細胞増殖・分化・接着・移動などを制御するシグナル伝達分子である。actin 結合ドメインを持ち、細胞質における actin dynamics に関わる。また、核移行シグナル (NLS) を持っており、核内にも存在することも知られている。しかし、核内における c-Abl の機能は未解明な部分が多い。そこで、我々は c-Abl の核内新規機能を探索し、F-actin bundle を核内に形成することを見出した (発表論文 1) ので以下に解説する。

c-Abl の核局在は細胞質局在に比べ少ないため、NLS をアミノ末端に連結させた核移行型 c-Abl (NLS-c-Abl) を作成した。NLS-c-Abl は大部分が核内に局在し、NLS-c-Abl が誘導した核内チロシンリン酸化反応は、imatinib (Abl 阻害剤) で完全に阻害された (発表論文 2) ことから、NLS-c-Abl は核内 c-Abl の機能探索において有用なツールと考えられた。NLS-c-Abl を、当研究室で確立した polyethylenimine (pH 4.0) を用いた遺伝子導入法 (発表論文 3) で細胞に発現させた。興味深いことに、NLS-c-Abl は一部の発現細胞において、核内で繊維状に局在していた (図 1)。c-Abl が actin 結合ドメインを有していることから、actin 重合体 (filamentous actin, F-actin) を Phalloidin で染色したところ、繊維状局在した NLS-c-Abl と共局在する束状の F-actin (F-actin bundle) が検出された。この F-actin bundle は、NLS-c-Abl 非発現細胞では見られないことから、核内 c-Abl は F-actin bundle を形成することがわかった。Z 軸をずらし 0.9  $\mu\text{m}$  おきに顕微鏡画像を取得したところ、F-actin bundle は核の底面から登頂まで立体的に形成され、長く曲がりくねった構造をしていた。さらに、 $\beta$ -actin (actin 単量体) の過剰発現により F-actin 形成を促したとき、内在性 c-Abl のノックダウンは、核内 F-actin を減少させた。よって、内在性 c-Abl が核内 F-actin 形成に関わることがわかった。

次に、F-actin bundle 形成における核内 c-Abl のチロシンリン酸化活性の寄与を調べた。NLS-c-Abl 発現細胞に imatinib を処理したところ、F-actin bundle 形成が完全に阻害された。しかし、F-actin の核内染色強度が高かったことから、F-actin 形成 (actin 重合) 自体

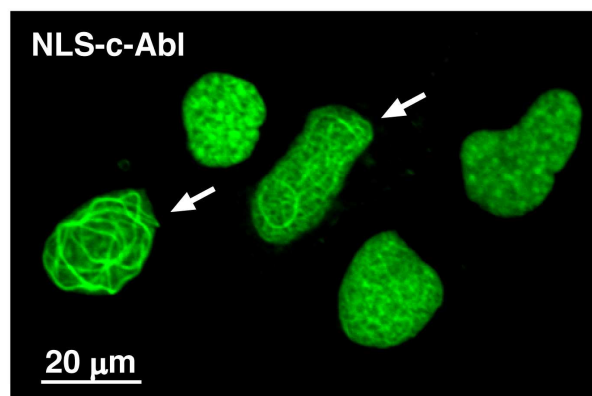


図 1. 核移行型 c-Abl の核内繊維状局在  
核移行型 c-Abl (NLS-c-Abl) を発現させ、共焦点レーザー顕微鏡で観察した。全ての細胞で核内に局在したが、一部の細胞で繊維状に局在していた。(矢印：繊維状局在を示した細胞)

は起こっており、網目状構造の F-actin が形成されているものと考えられた。よって、核内 c-Abl のチロシンリン酸化活性は、F-actin の bundle を形成するのに必要であることが示唆された。次に、actin 結合ドメインを含むカルボキシ末端の欠損変異体 (NLS-c-AblΔC) を作成した。NLS-c-AblΔC は、チロシンリン酸化活性を示したが、核内 F-actin の形成は誘導しなかった。よって、核内 F-actin 形成には、actin 結合ドメインが必要であることがわかった。さらに、核移行型 Lyn, Syk チロシンキナーゼは、NLS-c-AblΔC 同様、核内でチロシンリン酸化は誘導するが、F-actin の形成は誘導しなかった。よって、核内 F-actin 形成は c-Abl 特異的な機能であることが示唆された。

我々は、これまでに核内チロシンリン酸化が、クロマチン構造変換、ヒストン修飾、遺伝子発現の制御に関わることを示してきた (発表論文 2,4,5)。そこで、核内 c-Abl がチロシンリン酸化活性依存的に誘導した F-actin bundle とクロマチン構造の関係を調べた。DNA と F-actin を共染色すると、核内 F-actin bundle はクロマチンの間に形成されていること、凝縮したクロマチンと部分的に近接していることがわかった。

以上から、核内 c-Abl が核内 F-actin bundle を形成することを示した。核内 c-Abl はヒストン修飾を介してクロマチン構造を凝縮させ、遺伝子発現を抑制する (発表論文 2) ことから、核内 F-actin bundle は、クロマチン近接領域において、ヒストン修飾因子の足場などとなってクロマチン制御、遺伝子発現に関わる可能性が考えられる。

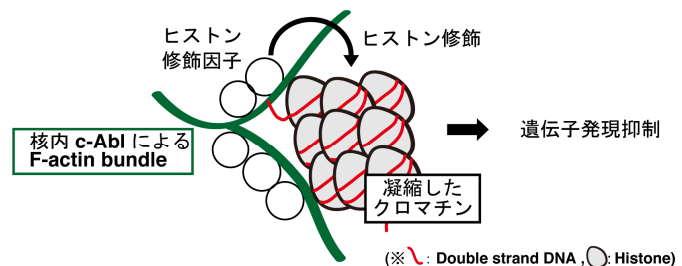


図 2. 核内 c-Abl による F-actin bundle 形成とクロマチン制御

核内 c-Abl はクロマチンと近接する F-actin bundle を形成することがわかった。核内 c-Abl は、ヒストン修飾を介してクロマチンを凝縮させ、遺伝子発現を抑制する (発表論文 2) ことから、核内 F-actin bundle は、ヒストン修飾因子の足場などになっている可能性が考えられる。

(発表論文)

- (1) **Aoyama, K.**, Yuki, R., Horiike, Y., Kubota, S., Yamaguchi, N.-t., Morii, M., Ishibashi, K., Nakayama, Y., Kuga, T., Hashimoto, Y., Tomonaga, T., and Yamaguchi, N. :Formation of long and winding nuclear F-actin bundles by nuclear c-Abl tyrosine kinase. *Exp. Cell Res.*, 319: 3251-3268, 2013.
- (2) **Aoyama, K.**, Fukumoto, Y., Ishibashi, K., Kubota, S., Morinaga, T., Horiike, Y., Yuki, R., Takahashi, A., Nakayama, Y., and Yamaguchi, N. : Nuclear c-Abl-mediated tyrosine phosphorylation induces chromatin structural changes through histone modifications that include H4K16 hypoacetylation. *Exp. Cell Res.*, 317: 2874-2903, 2011.
- (3) Fukumoto, Y., Obata, Y., Ishibashi, K., Tamura, N., Kikuchi, I., **Aoyama, K.**, Hattori, Y., Tsuda, K., Nakayama, Y., and Yamaguchi, N.: Cost-effective gene transfection by DNA compaction at pH 4.0 using acidified, long shelf-life polyethylenimine. *Cytotechnology*, 62: 73-82, 2010.
- (4) Ishibashi, K., Fukumoto, Y., Hasegawa, H., Abe, K., Kubota, S.-i., **Aoyama, K.**, Kubota, S., Nakayama, Y., and Yamaguchi, N.:Nuclear ErbB4 signaling through H3K9me3 is antagonized by EGFR-activated c-Src. *J. Cell Sci.*, 126: 625-637, 2013.
- (5) Kubota, S., Fukumoto, Y., **Aoyama, K.**, Ishibashi, K., Yuki, R., Morinaga, T., Honda, T., Yamaguchi, N.-t., Kuga, T., Tomonaga, T., and Yamaguchi, N.:Phosphorylation of KRAB-associated protein 1 (KAP1) at Tyr-449, Tyr-458, and Tyr-517 by nuclear tyrosine kinases inhibits the association of KAP1 and heterochromatin protein 1alpha (HP1alpha) with heterochromatin. *J. Biol. Chem.*, 288: 17871-17883, 2013.