

研究 成 果 報 告 書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		複数リガンドの時間差刺激に対する細胞応答の統合的解析			
研究テーマ (欧文) AZ		Analysis of cellular responses to the time difference stimulation with multiple ligands			
研究氏 代 表 名 者	カタカナ CC	姓) サクライ	名) ヒロアキ	研究期間 B	2007 ~ 2008 年
	漢字 CB	櫻井	宏明	報告年度 YR	2009年
	ローマ字 CZ	Sakurai	Hiroaki	研究機関名	富山大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		富山大学・和漢医薬学総合研究所・准教授			
<p>概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。)</p> <p>EGFR受容体ファミリーは、肺がんをはじめ多くのがん細胞で過剰発現や変異等が報告されており、がん悪性化に密接に関与している。一方、TNF-αシグナル伝達系は、NF-κBやMAPKなどのストレス応答シグナルを活性化し、がん細胞のアポトーシス制御や転移などに密接に関与していることが明らかにされてきた。そこで、本研究では、TNF-αシグナルとEGFシグナルの協調的制御機構について検討し、両シグナルの時間差刺激の細胞応答に及ぼす効果を検討した。</p> <p>まず、EGF刺激が10分以内にTAK1非依存的にp38を介してTAB1およびTAB2のリン酸化を起こし、これがEGF刺激10分後に行なったTNF-α刺激によるTAK1活性化を抑制することを見出した。また、TAK1の下流シグナルであるNF-κB活性化も抑制された。これとは逆向きのシグナルについても検討した結果、TNF-α刺激により10分以内にEGFRのエンドサイトーシスが起これることを見出した。これに伴い、TNF-α刺激10分後に細胞をEGFで刺激しても、EGFRの活性化が減弱していた。このエンドサイトーシスの分子機構を解析した結果、EGFRチロシンキナーゼ非依存的で、TAK1を介していることが判明した。さらに、TAK1の下流ではERKを介してEGFRのThr-669が、またp38を介してEGFRのSer-1046/1047がリン酸化されていることを見出した。このうち、TAK1-p38-EGFR経路はEGFRの細胞内局在化を制御するとともに、TNF-αシグナル伝達機構においてNF-κB生存シグナルとは全く独立した新たな生存シグナルとなっていることを突き止めた。</p> <p>以上のように、TNF-αシグナルとEGFシグナルは互いに干渉し合っていることを見出し、その分子機構においてTAK1キナーゼが重要な役割を果たしていることを明らかにした。</p>					
キーワード FA	EGFR	TNF- α	TAK1	apoptosis	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）										
雑誌	論文標題 ^{GB}	Cross interference with TNF- α -induced TAK1 activation via EGFR-mediated p38 phosphorylation of TAK1-binding protein 1								
	著者名 ^{GA}	Shin et al.	雑誌名 ^{GC}	Biochim. Biophys. Acta (Mol. Cell Res.)						
	ページ ^{GF}	1156 ~ 1164	発行年 ^{GE}	2	0	0	9	巻号 ^{GD}	1793 (7)	
雑誌	論文標題 ^{GB}	TAK1-mediated serine/threonine phosphorylation of epidermal growth factor receptor via p38/extracellular signal-regulated kinase: NF- κ B-independent survival pathways in tumor necrosis factor alpha signaling								
	著者名 ^{GA}	Nishimura et al.	雑誌名 ^{GC}	Mol. Cell. Biol.						
	ページ ^{GF}	5529 ~ 5539	発行年 ^{GE}	2	0	0	9	巻号 ^{GD}	29 (20)	
雑誌	論文標題 ^{GB}									
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}							
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}		
図書	著者名 ^{HA}									
	書名 ^{HC}									
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}		
図書	著者名 ^{HA}									
	書名 ^{HC}									
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}		

欧文概要 E Z

The kinase TAK1, a mitogen-activated protein kinase kinase kinase (MAP3K), has been widely accepted as a key kinase activating NF- κ B and MAPKs in tumor necrosis factor- α (TNF- α) signaling. We have recently reported that TAK1 regulates the transient phosphorylation and endocytosis of epidermal growth factor receptor (EGFR) in a tyrosine kinase activity-independent manner. In the present study, we found that Thr-669 in the juxtamembrane domain and Ser-1046/1047 in the carboxyl-terminal regulatory domain were transiently phosphorylated in response to TNF- α . Experiments using chemical inhibitors and small interfering RNA (siRNA) demonstrated that TNF- α -mediated phosphorylation of Thr-669 and Ser-1046/7 were differently regulated via TAK1-ERK and TAK1-p38 pathways, respectively. In addition, p38, but not ERK, was involved in the endocytosis of EGFR. Surprisingly, modified EGFR was essential to prevent apoptotic cellular responses; however, the EGFR pathway was independent of the NF- κ B anti-apoptotic pathway.

We also investigated the pathway of intracellular signaling in the opposite direction. Ligand-induced activation of EGFR caused phosphorylation of the TAK1-binding proteins TAB1 and TAB2 in a TAK1-independent manner. EGFR-mediated phosphorylation of TAB1 was completely inhibited by a chemical inhibitor and siRNA of p38 α . The phosphorylation of TAB1 was occurred at Ser-423 and Thr-431, the residues underlying the p38-mediated feedback inhibition of TAK1. In contrast, phosphorylation of TAB2 was sustained, and largely resistant to p38 inhibition. The inducible phosphorylation of TAB1 interfered with a response of EGF-treated cells to TNF- α -induced TAK1 activation, which led to the reduction of NF- κ B activation. Collectively, these results demonstrated that EGFR activation interfered with TNF- α -induced TAK1 activation via p38-mediated phosphorylation of TAB1.

In summary, we have found a novel intracellular communication network between the TNF- α and EGF signaling pathways. These findings raise the possibility that cellular responses to more than one ligand differ in their order of stimulation. Therefore, systematic analyses of short-term lag stimulation will provide new insight into the biological responses of the cell.