



| | |
|--------------|--|
| Title | The Tumor Suppressor Gene Product APC Is Hyperphosphorylated during the M Phase |
| Author(s) | Bhattacharjee, Rabindra Nath |
| Citation | 大阪大学, 1997, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/39998 |
| rights | |
| Note | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >大阪大学の博士論文についてをご参照ください。 |

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

| | |
|---------------|---|
| 氏 名 | バ ^タ ^チ ^ャ ^ー ^ジ ^ラ ^ビ ^ン ^ド ^ラ ^ナ ^ー ^ト BHATTACHARJEE RABINDRA NATH |
| 博士の専攻分野の名称 | 博 士 (医 学) |
| 学 位 記 番 号 | 第 1 2 9 9 4 号 |
| 学 位 授 与 年 月 日 | 平成 9 年 3 月 25 日 |
| 学 位 授 与 の 要 件 | 学位規則第 4 条第 1 項該当 医学研究科生理系専攻 |
| 学 位 論 文 名 | The Tumor Suppressor Gene Product APC Is Hyperphosphorylated during the M Phase (癌抑制遺伝子 APC の産物はM期にリン酸化される) |
| 論 文 審 査 委 員 | (主査) 教 授 秋 山 徹 (副査) 教 授 木 下 タ ロ ウ 教 授 野 島 博 |

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

APC 遺伝子は、家族性腺腫性ポリポシス (Familial adenomatous poliposis, FAP) の原因遺伝子として単離されたが、sporadic な大腸癌のほとんどの症例でも異常を起こしていることが見出されている。APC 遺伝子の産物は、細胞質に局在する 300kDa の蛋白質で、過剰発現すると cyclin/CDK の活性を阻害し細胞周期の G 1 期から S 期への移行を抑制する活性をもっている。APC 蛋白質は細胞接着に重要なはたらきをするカドヘリンの裏打ち蛋白質 β -カテニンと結合することが知られているが、我々は最近 APC 蛋白質がさらに Drosophila の癌抑制遺伝子 DLG のヒトホモログの産物と結合することを見出している。そこで、APC 蛋白質および DLG 蛋白質の発現およびリン酸化の状態が細胞周期の進行に伴ってどのように変化するのか、どのようなリン酸化酵素が関与しているのか、リン酸化によりどのように機能が変化するのかを明らかにすることを目的として研究を行った。

【方法ならびに成績】

1. APC 蛋白質の発現レベルは細胞周期を通して一定で大きな変化はなかったが、リン酸化は細胞周期の進行に伴って顕著に変化することが明らかになった。すなわち、APC 蛋白質はリン酸化蛋白質で、細胞周期をとおしてリン酸化されているが、特にM期にリン酸化が亢進し、SDS 電気泳動上バンドの移動度が遅れた。M 期での高リン酸化状態は一過性のもので、G 1 期に入ると速やかに脱リン酸化され電気泳動上の移動度が速くなることが判明した。また、リン酸化アミノ酸の分析により APC 蛋白質のリン酸化はセリン・スレオニンであることが明らかになった。リン酸化に関与する酵素について検討した結果、M 期に活性化し G 2-M 移行に重要な役割を果たす CDC 2 が in vitro で APC をよくリン酸化することが見出された。事実、APC 蛋白質には CDC 2 によるリン酸化のコンセンサス配列が多数存在する。また、APC 蛋白質は in vitro で GSK-3 (glycogen synthase kinase-3) の良い基質となることが明らかになった。GSK-3 は Wnt-1 のシグナル伝達経路にあることが知られており、APC 蛋白質と結合することの知られている β -カテニンもやはり Wnt-1 シグナル伝達経路上に存在することと考えあわせると興味深い。

2. DLG 蛋白質の発現レベルも細胞周期を通じて一定であるが、リン酸化は G 2-M 期に亢進し、SDS 電気泳動上多数のバンドのシフトが見られた。G 1 期にはふたたびリン酸化のレベルは低下した。リン酸化されるアミノ酸は

セリン・スレオニンで、リン酸化に関与する酵素を検討した結果、やはり CDC 2 が in vitro で DLG 蛋白質を良くリン酸化することが明らかになった。また、DLG 蛋白質は G 1 期の細胞抽出液によってはリン酸化されないが、M 期の抽出液で効率よくリン酸化されること、M 期の抽出液を CDC 2 と結合する P 13-Sepharose とあらかじめ混合して CDC 2 を deplete するとリン酸化する活性がなくなることが見出された。これらの結果から CDC 2 が DLG のリン酸化酵素である可能性が高いと考えられた。

【総括】

1. APC 蛋白質は M 期に、セリン・スレオニン残基のリン酸化が亢進することが明らかになった。M 期の進行に重要な役割を果たす CDC 2 および Wnt-1 のシグナル伝達経路上に存在する GSK-3 が、DLG リン酸化酵素である可能性が示唆された。

2. DLG 蛋白質も G 2-M 期にセリン・スレオニン残基のリン酸化が亢進し、CDC 2 がリン酸化に関与している可能性があると考えられた。リン酸化の意義は未だ明らかでないが、リン酸化により両者の複合体形成が調節されている可能性もあると考えられる。

論文審査の結果の要旨

APC 遺伝子は、家族性腺腫性ポリポシス (Familial adenomatous poliposis, FAP) の原因遺伝子として単離されたが、sporadic な大腸癌のほとんどの症例でも異常を起こしていることが見出されている。APC 遺伝子の産物は、細胞接着に関与する β -カテニンおよび Drosophila の癌抑制遺伝子 DLG のヒトホモログの産物と複合体を形成しており、過剰発現すると細胞周期の G 1-S 移行を抑制する活性を示す。本論文において著者は APC 蛋白質および DLG 蛋白質の発現およびリン酸化について検討し以下の結果を得ている。1. APC 蛋白質の発現レベルは細胞周期を通して一定で大きな変化はない。2. APC 蛋白質は、細胞周期を通してセリン・スレオニン残基がリン酸化されているが、特に M 期にはリン酸化により SDS 電気泳動上バンドの移動度が変化する。3. APC 蛋白質のリン酸化には CDC 2 および GSK-3 (glycogen synthase kinase-3) が関与している可能性が示唆された。4. DLG 蛋白質の発現レベルも細胞周期を通じて一定である。5. DLG 蛋白質もセリン・スレオニン残基のリン酸化が G 2-M 期に亢進する。6. DLG 蛋白質のリン酸化には CDC 2 が関与していると考えられる。本研究は、APC 蛋白質および DLG 蛋白質の発現、リン酸化についてはじめて解析、報告したものであり、学位の授与に値すると考えられる。