

[別紙1]

論文の内容の要旨

論文題目 G2/M 期進行における Akt 依存的な WEE1Hu の
リン酸化とその意義

指導教官 鶴尾隆教授

東京大学大学院医学系研究科

平成13年4月入学

医学博士課程

分子細胞生物学専攻

氏名 片山和浩

ヒト癌において頻繁に認められる癌抑制遺伝子 *PTEN* の欠失は、その下流分子であるセリン・スレオニンキナーゼ Akt を恒常的に活性化している。細胞増殖は細胞周期により厳密に制御されているが、恒常的に活性化した Akt は G1 期制御を破綻させ、癌細胞の異常増殖を促すことが知られている。しかし Akt による G1 期以外の細胞周期制御についてはほとんど報告されていない。ある種の抗癌剤は Akt シグナル伝達系を遮断し、増殖抑制・アポトーシス誘導を促すことが報告されており、特にエトポシド、シスプラチン、ゲルダナマイシン誘導体は Akt を不活性化すると共に S 期あるいは G2/M 期において細胞周期を停止させる事が知られている。しかし、その分子機構は未解明であった。本研究において、これらの薬剤が G2/M 期停止の指標である Cdc2 の Tyr¹⁵ のリン酸化を亢進させる事を見出し、また Akt の上流キナーゼである PI3K の特異的阻害剤 LY294002 も同様に Cdc2 の Tyr¹⁵ のリン酸化亢進を伴った G2/M 期停止を誘導する事を見出した。WEE1Hu は Cdc2 の Tyr¹⁵ をリン酸化する分子であり、G2/M 期停止誘導因子として知られている。そこで *wee1hu* 遺伝子を siRNA によりノックダウンした結

果、上述の抗癌剤や LY294002 により誘導された Cdc2 のリン酸化体増加は認められなかった。さらに野生型 PTEN あるいはドミナントネガティブ型 Akt 発現により Cdc2 の Tyr¹⁵ のリン酸化亢進を認めたことから、Akt が WEE1Hu を抑制的に制御する事が示唆された。実際に Akt は細胞周期進行に伴い S 期から G2 期において WEE1Hu の C 末端領域の Ser⁶⁴² をリン酸化することを見出した。このリン酸化に伴う WEE1Hu 活性の変化は認められなかったが、リン酸化 Ser⁶⁴² 依存的な 14-3-3 θ の結合が確認された。一方、以前より報告されていた WEE1Hu と 14-3-3 β / - σ の結合は内在性の発現レベルでは認められなかった。その理由は細胞周期進行において 14-3-3 θ は恒常的に発現しているのに対し、Akt によって WEE1Hu がリン酸化される S 期から G2 期において 14-3-3 β / - σ は発現低下する為であった。14-3-3 θ との結合は WEE1Hu を核から細胞質へと局在移行させ、G2/M 期停止誘導因子として機能を失わせる事が確認された。以上の結果より、Akt は S 期から G2 期においてリン酸化依存的に WEE1Hu を細胞質移行・機能抑制させ、M 期への進行を積極的に促進させていることが明らかになった。WEE1Hu による細胞周期進行抑制を解除する事が G2/M 期遷移の初段階で重要であるが、本研究ではその分子機構について明らかにした。