

審査の結果の要旨

氏名 片山和浩

本研究は細胞増殖シグナル伝達系の一つである Akt シグナル伝達系と、細胞増殖を制御している細胞周期との関連、特にほぼ未解明であった G2/M 期遷移について明らかにすることを試みたものであり、下記の結果を得ている。

- 1, エトポシド、シスプラチン、ゲルダナマイシン誘導体 17-AAG による Akt の不活性化・S 期あるいは G2/M 期における細胞周期停止が、WEE1Hu の活性化に伴う Cdc2 の不活性化によるものである事を明らかにした。実際に WEE1Hu 蛋白質の発現を siRNA により抑制した細胞では、これらの抗癌剤処理による Cdc2 の不活性化は認められなかった。
- 2, Akt の上流キナーゼである PI3K の特異的阻害剤 LY294002 処理によっても、同様に Cdc2 の不活性化を伴う G2/M 期停止を認めた。また *wee1hu* siRNA 導入細胞では LY294002 による Cdc2 の不活性化が認められなかった。さらに、Akt シグナル伝達系の抑制因子である PTEN やドミナントネガティブ型 Akt 発現細胞において Cdc2 の不活性化が認められたことから、Akt が WEE1Hu を負に制御している可能性が示された。
- 3, Akt による WEE1Hu のリン酸化について検討したところ、*in vitro*、*in vivo* いずれにおいてもリン酸化する事を明らかにした。また、そのリン酸化部位は、WEE1Hu の point mutant form を用いた実験により、C 末端領域に位置する Ser⁶⁴² である事が明らかになった。この Akt による WEE1Hu のリン酸化は細胞周期進行において S 期から G2 期にかけて起こっている事が示された。
- 4, Akt による WEE1Hu のリン酸化は、WEE1Hu 自身のキナーゼ活性には影響しなかったものの、14-3-30 の結合促進による核から細胞質への局在移行を促している事が示された。この局在移行により WEE1Hu は機能を失い、不活性型 Cdc2 の減少・G2/M 期遷移

が認められた。

- 5, Akt のリン酸化部位である Ser⁶⁴² をアラニンに置換した S642A 型 WEE1Hu 発現細胞では、野生型 WEE1Hu 発現細胞に比して G2/M 期停止能が向上した。これらの細胞に LY294002 を処理したところ、野生型 WEE1Hu 発現細胞では10%程度 G2/M 期停止が亢進したのに対し、S642A 型 WEE1Hu 発現細胞では LY294002 による影響が認められなかったことから、Akt による WEE1Hu のリン酸化が G2/M 期遷移に重要な役割を担う事が示された。

以上、本論文は G2/M 期遷移の初段階において重要である WEE1Hu の機能抑制を Akt が担っている事を明らかにした。本研究は Akt シグナル伝達系による細胞周期制御において未解明であった G1 期以外についても明らかにしたものであり、また G2/M 期遷移機構の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。