

[課程-2]

審査の結果の要旨

氏名 曾根 献文

本研究は細胞極性保持を担う異形成性癌抑制蛋白 Scrib のヒトホモログである hScrib のアポトーシスへの関与を明らかにするため、hScrib がアポトーシスシグナル伝達経路の中で実行カスパーゼによって分解されるデスサブストレイトであるかに注目し、分子細胞生物学的な手法を用いて hScrib の機能解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. ウェスタンブロット解析、*in vitro* translation 法による検討により hScrib はアポトーシスシグナル伝達経路において実行カスパーゼ、特にカスパーゼ 3 によって分解されるデスサブストレイトであることが示された。
2. hScrib のアミノ酸置換体を用いた実験において hScrib は 504 番目のアミノ酸の C 末側でカスパーゼ 3 により切断を受けることが示された。
3. 遺伝子導入法を用いた実験によりカスパーゼ 3 によって分解されない hScrib すなわち 504DA hScrib を強発現した細胞では、細胞内においてはアポトーシスが進行していたが、hScrib、E-cadherin の細胞膜での発現は保たれていた。すなわちアポトーシス誘導時にカスパーゼ-3 によって hScrib が分解されることにより、細胞離解が進行すると考えられる。
4. pCMV-16E6 ベクターを遺伝子導入した検討においてはアポトーシス誘導後では、コントロールベクターを遺伝子導入した細胞よりも pCMV-16E6 ベクターを遺伝子導入した細胞の方が p170 hScrib すなわち、hScrib のカスパーゼ依存性 cleavage の生成が抑えられた。HPV E6 によるユビキチン-プロテアソーム系を介した hScrib の分解によってアポトーシス進行時におけるカスパーゼ依存性 cleavage の生成が抑制されることが示された。

以上、本論文において hScrib はアポトーシスが進行する過程で、実行カスパーゼ、特にカスパーゼ 3 によって分解されるデスサブストレイトであり、その発現が消失するとアドヘレンスジャンクションの崩壊が進行し細胞接着の消失に大きく関わることを示された。また HPV E6 ベクターを遺伝子導入した検討により hScrib のカスパーゼ 3 依存性 cleavage が細胞接着関連蛋白を崩壊させ、細胞離

解を進行させる必要不可欠なシグナルである可能性が示されたことから、本研究は組織の癌化及び化学療法や放射線耐性の癌のメカニズム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である。