

直江 秀昭氏の学位論文審査の要旨

論文題目

APC/C 活性化因子 Cdh1 は p190 RhoGAP の分解を通して細胞骨格を制御している

(The APC/C activator Cdh1 modulates actin cytoskeleton by targeting p190 RhoGAP for degradation)

Cdh1 は E3 ユビキチンリガーゼである Anaphase promoting complex/cyclosome (APC/C) の活性化因子であり、細胞周期の蛋白をユビキチン化してプロテアソーム依存的に分解することで分裂期後期からの脱出と G1 期の維持を制御している。しかし、Cdh1 は分裂期の細胞のみならず、分裂後の細胞や静止期の細胞においても発現し、活性化していることから細胞周期の調節以外にも役割を持つことが指摘されている。本研究は、Cdh1 ホモ gene trap マウス (*Cdh1^{fl/fl}*)、*Cdh1^{fl/fl}* マウス由来の線維芽細胞や Cdh1 を欠損させた HeLa 細胞などを利用して新たな Cdh1 の機能を解析したものである。

結果として、*Cdh1^{fl/fl}* マウスの線維芽細胞および Cdh1 ノックダウン HeLa 細胞は免疫染色においてアクチン線維と接着斑の減少を認めた。この結果を裏付けるようにアクチン線維の重合と接着斑の形成を制御している RhoGTPase の活性が、Cdh1 ノックダウン細胞では有意に低下していた。Rho 関連蛋白の発現をみてみると、*Cdh1^{fl/fl}* マウス線維芽細胞では Rho の代表的な抑制因子である p190RhoGAP の発現が増加していた。siRNA で Cdh1 の発現を抑制した細胞と、ドミナントネガティブに作用する Cdh1 を過剰発現させた細胞を用いた実験においても同様の結果が得られた。Cdh1 を欠損した細胞にプロテアソーム阻害剤 MG132 処理すると、p190 のユビキチン化が減弱し、反対に Cdh1 を過剰発現させた状態では p190 のユビキチン化が増強した。in vitro でも Cdh1 存在下に p190 はユビキチン化され、免疫沈降で Cdh1 と p190 は共沈した。Cdh1 欠損細胞の運動能は低下しており、p190 を同時に欠損させることで運動能を戻すことができた。*Cdh1^{fl/fl}* マウス胎児では胎盤の血栓と眼瞼上皮閉鎖不全による開眼が認められ、これらはそれぞれ Rho のエフェクターである ROCK II と ROCK I ノックアウトマウスの表現形と類似していた。以上の結果から細胞周期の進行に関連する既知の蛋白に加えて、Cdh1 は p190RhoGAP を分解の標的としており、Rho の活性を調節し細胞骨格を制御していることが明らかとなった。

公開審査では、(1) Cdh1 による APC 活性化のメカニズム；(2) Rho に着目した理由；(3) p190 の結合タンパク質の標的化；(4) Cdh1 が制御する細胞周期と細胞骨格の関係；(5) 細胞周期調節における Cdh1 の重要性；(6) *Cdh1^{fl/fl}* マウスの詳細な表現型；(7) Cdh1 とがんとの関係；(8) Cdh1 による cell survival 制御のメカニズム；(9) p190 を標的とする他の E3 リガーゼ；(10) p190 の GAP 以外の機能、(11) 他の APC 活性化因子のノックアウトマウスの表現型、などについて活発な質疑が行われ、申請者からは概ね適切な回答が得られた。

本研究は、Cdh1 が p190RhoGAP を分解の標的とし、Rho の活性を調節して細胞骨格を制御していることを明らかにしたものであり、新しい Cdh1 の機能を見出した点で高く評価される。

審査委員長 細胞情報薬理学担当教授

中西 宏之

審査結果

学位申請者名：直江 秀昭

専攻分野： 消化器内科学

学位論文名：APC/C 活性化因子 Cdh1 は p190 RhoGAP の分解を通して細胞骨格を制御している
(The APC/C activator Cdh1 modulates actin cytoskeleton by targeting p190 RhoGAP for degradation)

指導教官名： 佐々木 裕 教授、佐谷 秀行 前教授

判定結果：

Ⓚ

不可

不可の場合： 本学位論文名での再審査

可

不可

平成22年7月6日

審査委員長 細胞情報薬理学担当教授

中西 宏之

審査委員 細胞医学担当教授

中尾 光善

審査委員 分子生理学担当教授

富澤 一仁

審査委員 分子遺伝学担当教授

尾池 雄一