

# 細胞周期を制御する PRIP 機能の解析研究

医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻

前谷 有香

我々は、phospholipase (PLC)-related catalytically inactive protein (PRIP) という PLC 類似のドメイン構造を有しているが、PLC 酵素活性を持たない分子の形質膜におけるリン脂質代謝制御機構について研究してきた。そして、PRIP がホスファチジルイノシトール 4,5-二リン酸 [PI(4,5)P<sub>2</sub>] に結合し、phosphatidylinositol 3-kinase による PI(4,5)P<sub>2</sub> からホスファチジルイノシトール 3,4,5-三リン酸 [PI(3,4,5)P<sub>3</sub>] への代謝を調節する分子であることをみいだした。本研究では、PI(4,5)P<sub>2</sub> の下流で活性化される PI(3,4,5)P<sub>3</sub>-AKT-GSK3β シグナル伝達経路による細胞周期調節機構に着目して、PRIP がこのシグナル伝達経路を調節しているか、その調節によって細胞周期を制御しているかを検討した。

*Prip1, Prip2* ダブルノックアウトマウスから調整したマウス線維芽細胞 (*Prip*-KO MEF) では、リン脂質分画の PI(3,4,5)P<sub>3</sub> 量が亢進していた。ヒト乳癌細胞 MCF7 (*PRIP1*<sup>-/-</sup>, *PRIP2*<sup>+/+</sup>) を用いたフローサイトメトリー解析では、*PRIP2* ノックダウン MCF7 細胞 (si*PRIP2*-MCF7) の G1 期の細胞割合の減少を認めた。逆に *PRIP1* の過剰発現 MCF7 細胞 (*PRIP1*-MCF7) での G1 期の細胞割合は増加した。次に AKT-GSK3β シグナル伝達経路によって制御されている細胞周期シグナルが、PRIP によって調節を受けているかをウェスタンブロット法で解析した。si*PRIP2*-MCF7 細胞では、AKT や GSK3β 分子のリン酸化レベルが増加し、サイクリン D1 の発現亢進がみられた。一方 *PRIP1*-MCF7 では、AKT や GSK3β 分子のリン酸化レベルが低下し、サイクリン D1 の発現レベルは減少した。

次に、PRIP 発現が細胞増殖に影響するかを検討した。MCF7 に *PRIP1* を過剰発現させると、細胞増殖は抑制された。そこで、恒常的 EGFP-*PRIP1* 過剰発現 MCF7 細胞を作製しヌードマウスに移殖して腫瘍塊形成能を解析した。その結果、野性型 MCF7 細胞と比較して EGFP-*PRIP1* MCF7 の腫瘍塊形成は、著しく抑制されることが明らかとなった。

本研究を通して、PRIP が AKT-GSK3β シグナル伝達経路を調節して、細胞周期の進行を負に制御すること、また、PRIP 過剰発現によって癌細胞などで細胞増殖を抑制できることを明らかにした。よって、PRIP の発現変化によって癌細胞の増殖能が変わる可能性があり、PRIP 発現の有無が新しい癌悪性度の指標となる可能性を示すことができた。