

GRWD1タンパク質は核小体ストレス応答に関与しているリボソームタンパク質RPL23をユビキチン-プロテアソーム系を介して量的に制御している

渡邊, 心也

<https://hdl.handle.net/2324/1806971>

出版情報：九州大学, 2016, 博士（創薬科学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

氏名	渡邊 心也
論文名	GRWD1 タンパク質は核小体ストレス応答に関与しているリボソームタンパク質 RPL23 をユビキチン-プロテアソーム系を介して量的に制御している
論文調査委員	主査 九州大学 薬学府 教授 藤田 雅俊 副査 九州大学 薬学府 教授 片山 勉 副査 九州大学 薬学府 准教授 阿部 義人 副査 九州大学 システム生命科学府 教授 釣本 敏樹

論文審査の結果の要旨

タンパク質GRWD1 (glutamate-rich WD40 repeat containing 1) は、DNA複製因子Cdt1の新規結合タンパク質として同定された因子であり、ヒストンシャペロンとして複製ヘリカーゼであるMCM複合体のローディングを促進することで、複製前複合体 (pre-RC) の形成を促進している。一方で、GRWD1がリボソーム合成やタンパク質のユビキチン化制御にも関与している可能性が報告されているが、それらについての詳細な分子機構は不明なままである。また、近年の研究において、GRWD1ががん遺伝子として機能していることを示唆するデータが得られつつあるが、その詳細についても明らかになっていない。加えて、GRWD1が未知の機能を持っている可能性も考えられる。そこで、本研究ではプロテオーム解析により、GRWD1結合タンパク質の網羅的同定が行われた。

その結果、GRWD1は様々な細胞内反応に関与している因子と関連があることが示唆された。その中でも本研究では、核小体ストレス誘導因子RPL11 (ribosomal protein L11) およびRPL23 (ribosomal protein L23) に着目し、さらに解析を進めた。RPL11およびRPL23は、MDM2ユビキチンリガーゼに結合しその活性を抑制することでp53を誘導し、がん抑制的に機能している因子と考えられている。まず、GRWD1はRPL11に結合し、RPL11-MDM2結合を阻害することでp53の分解を促進し機能抑制することが示された。これについては、すでに論文発表がなされている。

次に、GRWD1によるp53抑制や細胞がん化促進にRPL23との相互作用も関与しているという可能性を考え、検討が行われた。まず、GRWD1を一過的に過剰発現させたところ、RPL23タンパク質の量が減少し、これはプロテアソーム阻害剤MG132添加により抑制された。また、GRWD1結合タンパク質として同定されたE3ユビキチンリガーゼであるEDDの過剰発現でもRPL23量が減少し、GRWD1およびEDDの共発現で相乗的なRPL23量の減少が見られた。次にsiRNAを用いてGRWD1を発現抑制した後、低容量アクチノマイシンD処理により核小体ストレスを誘導したところ、RPL23タンパク質レベルの増加が見られた。加えて、GRWD1およびEDD が、RPL23をユビキチン化し得ることも明らかとなった。これらの結果から、EDD-GRWD1がユビキチン-プロテアソームシステムを介してRPL23タンパク質の量を制御していることが示された。

さらに、GRWD1過剰発現がRPL23によるMDM2活性抑制を阻害することも判明した。最後に、RPL23過剰発現による増殖阻害がGRWD1共発現により解除されるかどうかを試された。その結果、RPL23発現によるHCT116細胞の軟寒天培地中でのコロニー形成能の抑制が、GRWD1共発現により回復することが示された。以上から、GRWD1がRPL11-MDM2経路およびRPL23-MDM2経路の両

方を介してp53活性化に抑制的に機能し、その結果がん促進的に働いている可能性が示唆された。

以上の結果は非常に興味深いものと考えられ、よって本学位請求論文は博士（創薬科学）の学位に値すると認めた。