

# 学位論文抄録

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)**

直江 秀昭

指導教員

佐々木 裕 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻消化器内科学

佐谷 秀行 前教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程病態制御学専攻腫瘍医学

## 学位論文抄録

**【目的】** 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、様々な細胞周期調節因子を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 G1 期への進行を制御している。これらの細胞周期における Cdh1 の機能は主に哺乳類の培養細胞やハエ、酵母などのモデル生物を用いた研究を通して明らかにされてきた。本研究は、Cdh1 のさらなる生理的機能を明らかにすることを目的とする。

**【方法】** 生体での Cdh1 の機能を明らかにするために *Cdh1*<sup>GT/GT</sup> マウス同士を交配することにより *Cdh1*<sup>GT/GT</sup> マウスの作製を試みた。しかし、*Cdh1*<sup>GT/GT</sup> マウスは胎生致死であったことから胎児より線維芽細胞を樹立し、細胞骨格の解析を行った。また、線維芽細胞以外での機能を調べるために HeLa 細胞に siRNA を形質導入することで Cdh1 を欠損させ同様に解析した。細胞骨格の他に、細胞運動の評価を細胞走化性試験により行った。4 倍体キメラ法にて Cdh1 のレスキューマウスを作製し、その解析を行った。

**【結果】** *Cdh1*<sup>GT/GT</sup> マウスの線維芽細胞および Cdh1 ノックダウン HeLa 細胞では、免疫染色学的解析においてアクチン線維と接着斑の著明な減少を認めた。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ると、*Cdh1*<sup>GT/GT</sup> 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 変異体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 のユビキチン化が促進され、Cdh1 を過剰発現させた状態でも 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、免疫沈降法では 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回復させることが可能であった。*Cdh1*<sup>GT/GT</sup> マウス胎児の解析では胎盤の血栓と閉眼の遅れという所見を呈し、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。

**【考察】** 細胞周期調節以外の Cdh1 の機能はこれまでほとんど明らかにされていない。本研究の結果により、Cdh1 は細胞周期の進行と細胞骨格の形成という二つの現象に関与している可能性が示唆された。

**【結論】** 細胞周期の進行に関連する既知の蛋白質に加えて、Cdh1 は p190RhoGAP を分解の標的としており、その結果 Rho の活性を調節することで細胞骨格を制御している可能性がある。