

論 文 内 容 要 旨

題 目

C-terminal region of GADD34 regulates eIF2 α dephosphorylation and cell proliferation in CHO-K1 cells

(GADD34のC末端領域はCHO-K1細胞におけるeIF2 α の脱リン酸化および細胞増殖を調節する)

著 者

大塚 良

内容要旨

GADD34 は増殖停止および DNA 損傷誘導性遺伝子ファミリー (Growth Arrest and DNA Damage-inducible gene family) のメンバーである。本研究で我々は、GADD34 遺伝子にナンセンス突然変異 (Q525X 突然変異) を持つ、チャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO-K1) 由来の新しい細胞株 CHO-K1-G34M 細胞を複数株樹立した。これら細胞株は 590 アミノ酸からなる野生型 GADD34 タンパク質に見られる C 末端領域 66 残基を欠失した変異 GADD34 タンパク質をコードする Q525X 突然変異遺伝子を有している。GADD34 タンパク質とホスファターゼ 1 タンパク質 (PP1) の複合体は、細胞ストレス負荷時にタンパク質合成を抑制する真核細胞翻訳開始因子 2 α サブユニット (eIF2 α) の脱リン酸化に関与している。野生型 GADD34 タンパク質のドメインには KVHF モチーフと RARA 配列が含まれ、いずれも PP1 の結合と eIF2 α ホスファターゼ複合体の形成に必須とされている。GADD34 Q525X タンパク質の予想されるアミノ酸配列では C 末端の RARA 配列を欠失していることから、この突然変異タンパク質は野生型に比較して PP1 結合能が低下ないしは喪失している可能性が示唆される。そこで本研究では Q525X 変異および正常 GADD34 タンパク質が eIF2 α のリン酸化状態に及ぼす影響について検討した。

Q525X 変異 GADD34 タンパク質を有する CHO-K1-G34M 細胞では、eIF2 α のリン酸化レベルが CHO-K1 正常細胞に比較して、タプシガルギンによる小胞体ストレス存在下および非存在下のいずれにおいても高いことが示された。また、CHO-K1 正常細胞に野生型 GADD34 タンパク質を過剰発現させた場合には eIF2 α のリン酸化レベルの大幅な低下を認められたが、Q525X 変異タンパク質を過剰発現させた場合には、わずかな低下しか認められなかった。これらの結果から、CHO-K1 細胞においては GADD34 タンパク質の C 末端領域が eIF2 α の脱リン酸化調節において中心的な役割を果たしていることが示唆された。

また我々は、グリコーゲンシンターゼキナーゼ 3 β (GSK3 β) を含む他の PP1 標的タンパク質の調節にも GADD34 が関与しているとの仮説を検証した。GSK3 β は、グリコーゲン産生、インスリンシグナル伝達、タンパク質合成、および古典的 Wnt シグナル伝達を含む多

くの細胞内シグナル伝達経路に関与している。しかし今回の研究では Q525X 変異の有無に関わらず GSK3 β のリン酸化状態に対して GADD34 は何ら明らかな効果を及ぼしていないことが示され、さらに GSK3 β の下流にある古典的 Wnt シグナル伝達経路に対しても影響を及ぼさなかった。このことから、CHO-K1 細胞においては GADD34 と PP1 の相互作用は GSK3 β の調節因子としての機能を有していないことが示唆された。

一方、GADD34 遺伝子のノックアウトによってサイクリン依存性キナーゼ阻害因子である p21 の発現低下とマウス胎児線維芽細胞の増殖促進が認められることが報告されている。今回の研究では、CHO-K1-G34M 細胞は CHO-K1 細胞と比較して細胞増殖が促進されることが示された。また GADD34 Q525X 変異タンパク質は野生型 GADD34 タンパク質に比較して p21 発現促進能も低かったことから、GADD34 の C 末端領域 66 アミノ酸が p21 の発現促進と細胞増殖抑制に関与していると考えられた。

以上、今回の研究で得られた結果から、GADD34 タンパク質の C 末端領域は eIF2 α の脱リン酸化と細胞増殖に重要な役割を果たしているが、GADD34 タンパク質自体は CHO-K1 細胞の GSK3 β の脱リン酸化と Wnt シグナル伝達経路には関わっていない可能性が示唆された。