

原癌遺伝子 Akt のアイソフォーム特異的機能制御

東京大学 分子細胞生物学研究所

情報伝達研究分野

樋口 麻衣子

1. 目的

Aktは、細胞の増殖・生存・運動・極性・小胞輸送・グルコース代謝など、実に様々な過程において必須の役割を果たすキナーゼであるが、それぞれのコンテキストにおいてAktがどのようにして様々な機能を使い分けているのかは不明であった。申請者は最近、PAKというキナーゼがAktおよびその活性化因子PDK1に同時に結合し、Aktの活性化を促進するスキャフォールド分子であることを見出した (Higuchi et al., Nat. Cell Biol., 2008)。興味深いことに、PAKはAktの持つ全ての機能を制御するのではなく、一部の機能のみを選択的に制御することが明らかとなった。さらに、PAKがAktの機能を選択的に制御するメカニズムについて検討したところ、PAKがAktのアイソフォーム (Akt1) 特異的にスキャフォールド分子として機能する可能性が示唆された。そこで本研究では、PAKがAkt1特異的にスキャフォールド分子として機能するメカニズム、および繊維芽細胞においてAkt1のみが細胞運動性を制御するメカニズムを明らかにすることにより、PAK-Akt1依存的に細胞運動性が制御されるメカニズムを明らかにすることを目的とした。

2. 方法

PAKがAkt1特異的にスキャフォールド分子として機能するメカニズムとして、PAKがAkt1と特異的に結合する可能性について検討した。また、繊維芽細胞においてAkt1のみが細胞運動性を制御するメカニズムとして、Akt1が微小管を安定化することにより、細胞の前後極性の維持に貢献する可能性について検討した。

3. 結果

(1) PAK による Akt1 特異的機能制御について

申請者はこれまでに、優性抑制型PAKの発現によりPAK依存的な経路を阻害すると、Aktの基質のうち一部の基質のみのリン酸化が抑制されること、またAktが持つ様々な機能のうち細胞運動性に関わる機能が選択的に抑制されることを見出しており、PAKがAktの一部の機能のみを選択的に制御しているものと考えられた。そこで、PAKがAktの機能を選択的に制御するメカニズムについて、PAKがAktのアイソフォーム特異的にスキャフォールド分子として機能する可能性に注目して検討を行った。申請者らの用いている繊維芽細胞にはAkt1とAkt2が発現しているが、Akt1が細胞運動性を促進するのに対し、Akt2は細胞運動性への関与が少ないこと

をまず明らかにした。そこで、PAKとAkt1、Akt2の関係について調べたところ、PAKがAkt2に比べてAkt1とより強く結合すること、Akt2に比べてAkt1をより強く活性化することが明らかとなった。従って、PAKがAkt1特異的にスキャフォールド分子として機能することにより、Akt1が持つ細胞運動性に関わる機能を選択的に制御している可能性が考えられた。そこで、PAKがAkt1特異的にスキャフォールド分子として機能するメカニズムについて明らかにするため、Akt1上のPAK結合部位を同定することを試みた。その結果、PHドメインを欠損させたAkt1 (Akt1 ΔPH) 変異体もPAKと結合することが明らかとなった。従って、PAKとの結合にはAkt1のPHドメインは必要ないことが示唆された。

(2) PAK-Akt1による細胞運動性制御メカニズムについて

前述のように申請者は、繊維芽細胞においてAkt1のみが細胞運動性を促進すること、またPAKがAkt1の持つ細胞運動性に関わる機能を選択的に制御することを見出した。しかし、繊維芽細胞においてAkt1が細胞運動性を促進する際の基質はほとんど明らかにされておらず、なぜAkt1のみが細胞運動性を促進するのかも不明である。そこで本研究では、繊維芽細胞においてAkt1が細胞運動性を促進するメカニズムを明らかにし、PAK-Akt1による細胞運動性制御メカニズムの詳細を明らかにすることを目的とした。Akt1が細胞運動性を促進するメカニズムとして、申請者はこれまでにAkt1が微小管を安定化することにより細胞の前後極性の維持に貢献することを見出している。そこで、本研究ではその分子基盤について明らかにすることを目指した。現在までに、Akt1がE微小管(+)端結合タンパク質EB2/RP1に結合すること、並びにin vitroにおいてリン酸化しうることを見出した。また、EB2/RP1の機能は不明であったが、EB2/RP1をノックダウンすると微小管が安定化することから、微小管を不安定化する分子であることをこれまでに明らかにした。さらに、Akt1リン酸化候補部位をA1aに置換したEB2/RP1変異体を発現すると微小管が不安定化することから、「Akt1がEB2/RP1をリン酸化して機能抑制することにより、微小管を安定化する」というモデルを考えている。

4. 考察 まとめ

これまで重複した機能を持っていると思われていたAktのアイソフォームが、それぞれ特異的な機能を持っていることが報告されつつあり、それぞれのアイソフォームがどのようにその機能の使い分けしているのかは非常に興味深い問題であるが、本研究によってその答えの鍵となるメカニズムの一端が明らかになった。

Aktは様々な癌で異常な活性化が高頻度に観察されており、また、Aktの異常な活性化は癌の悪性度や抗癌剤耐性とも相関が高いことが報告されている。従って、Akt経路は癌の発生、悪性化、抗癌剤耐性における薬剤ターゲットとして有効であると考えられ、実際に多くのAkt経路を抑制する薬剤が開発されつつある。しかし、Akt経路は正常細胞の増殖、生存、代謝に重要である上に、Akt2のノックアウトマウスがインスリン抵抗性糖尿病の症状を示すことから、Akt経路をやみくもに抑制することは生体にとって有害となる可能性が高い、という問題を抱えている。実際に、Aktのキナーゼ阻害剤を全身投与すると、様々な副作用が起こることが複数のグループから報告されている。本研究により、Aktのアイソフォーム特異的な機能制

御メカニズムが明らかとなれば、「Aktの癌悪性化に関わりの深い機能のみを選択的に抑制する」という戦略により、Akt依存的な癌悪性化を制圧するための新しい薬剤ターゲットを提供することが出来ると考えている。

5. 発表論文、参考文献

Higuchi M, Onishi K, Kikuchi C & Gotoh Y. : Scaffolding function of PAK in the PDK1-Akt pathway. *Nat. Cell Biol.* 10 : 1356-64, 2008