

下垂体神経内分泌腫瘍で同定されたがん抑制遺伝子 *PHLDA3* 変異の機能解析

Functional analysis of mutant *PHLDA3* in pituitary neuroendocrine tumor

富永 航平<sup>1,2</sup>, 山口 陽子<sup>1</sup>, 永田 喜三郎<sup>2</sup>, 大木 理恵子<sup>1</sup>

Kohei tominaga<sup>1,2</sup>, Yhoko Yamaguchi<sup>1</sup>, Kisaburo Nagata<sup>2</sup>, Rieko Ohki<sup>1</sup>

1. 国立がん研究センター研究所 基礎腫瘍学ユニット

Laboratory of Fundamental Oncology, National Cancer Center Research Institute

2. 東邦大学大学院 理学研究科 生物分子科学専攻

Department of Biomolecular Science, Graduate School of Science, Toho University

Akt は生存・増殖・がん化シグナルの中枢を担っており、多くのがんにおいて高頻度に活性化している。Akt は細胞膜上のイノシトールリン脂質(PIP<sub>s</sub>)との結合を介して細胞膜に局在することで活性化し、Akt シグナルを伝達する。一方、*p53* はがん抑制に関わる様々な遺伝子の転写を正に制御しており、多くのがんにおいて機能が失われている。これまでに、我々は *p53* 標的遺伝子として *PHLDA3* を同定した。さらに、*PHLDA3* がほぼ PIP<sub>s</sub> に結合する PH ドメインのみから構成されること、そして Akt と PIP<sub>s</sub> との結合を競合的に阻害することで、Akt の細胞膜移行と活性化を抑制することを明らかにした。また、我々は *PHLDA3* が肺と膵臓の神経内分泌腫瘍 (NET) においてがん抑制遺伝子として機能していることを報告した。現在、肺・膵臓以外の臓器に発症する NET に着目し研究を進めている。

本研究では、下垂体 NET で同定された 4 種類の *PHLDA3* の点突然変異 (それぞれ PH3m1,2,3,4 とする) が *PHLDA3* 機能に与える影響について解析した。各点突然変異体の機能解析を行った結果、PH3m1 では細胞膜への局在能・Akt 抑制能が失われていた。一方で、PH3m2,3,4 の細胞膜への局在は正常であった。しかしながら、PH3m2,3 の Akt 抑制能は減弱しており、PH3m4 はユビキチン・プロテアソーム系による分解を強く受け、タンパク質の安定性が低下していることが示された。

PH3m4 変異は *PHLDA3* の PH ドメイン外の C 末端領域内で起きており、C 末端領域がタンパク質の安定性を制御することが考えられた。そこで、C 末端欠損体 ( $\Delta C$  とする) を作製し解析した。その結果、 $\Delta C$  は PH3m4 同様にタンパク質の安定性が低下することが示された。以上の解析から、下垂体 NET で見つかった *PHLDA3* の点突然変異によって *PHLDA3* 機能が失われることが明らかになった。また、機能未知であった C 末端領域がタンパク質安定化に寄与することが示された。さらに、PH3m2,3 の細胞膜局在は正常であるにもかかわらず Akt 抑制能が減弱することから、従来から考えられている機構とは異なる、新規の Akt 抑制機構の存在が示唆された。

