

## 自己分泌型細胞運動刺激因子 (Autocrine Motility Factor : AMF) の機能解析

柳 川 天 志<sup>1</sup>

### Autocrine Motility Factor (AMF) の 分泌メカニズムの解析<sup>1</sup>

無タンパク培養骨肉腫細胞株 (DPF 細胞) と以前教室で樹立した無タンパク培養線維肉腫細胞株 (Gc-4PF 細胞) に対してアデノウイルスベクターに組み込んだ Autocrine Motility Factor (AMF) を導入する実験を行った。AMF は細胞内ではほとんどすべての細胞で発現が認められ、解糖に必須の酵素 Phosphoglucose isomerase (PGI) と相同であることが知られている。<sup>2</sup> ある種の腫瘍細胞は PGI/AMF を細胞外に分泌し、これが autocrine 的に細胞運動を刺激し腫瘍の運動能、転移能を刺激する。PGI/AMF は signal peptide を欠くタンパクでありその分泌機構はいまだ明らかでない。実験により今まで AMF を分泌していた腫瘍細胞は AMF の過剰発現により運動能、転移能が増加したが、もともとは AMF を分泌していなかった細胞も AMF の過剰発現により AMF を分泌するようになった。これは AMF の分泌機構は腫瘍細胞に特異的なものではなく、AMF の mRNA レベルでの発現量とその分泌に関わっていることが示唆された。

### AMF の過剰発現による下流蛋白の発現変化の解析<sup>1</sup>

次に PGI/AMF の過剰発現の前後で発現量の変化する遺伝子をマイクロアレイを用いて調べたところ GDI- $\alpha$  と KIF3A の発現の上昇が認められた。これら二つの因子がどのように PGI/AMF のシグナルに反応しているかは依然不明であるが GDI- $\beta$  は Rho シグナルに抑制的働くことが知られており PGI/AMF による過度の運動刺激に対しネガティブフィードバックが働くものと示唆された。

### AMF のリン酸化の解析<sup>3</sup>

PGI/AMF は 185 番目のアミノ酸残基 (S185) がリン



酸化されることが知られているがその意義についてはまだ明らかでない。<sup>4</sup> この S185 をいくつかのアミノ酸で置換することによりリン酸化を模倣した PGI/AMF (S185D, S185E) とリン酸化をブロックされた PGI/AMF のモデル (S185A) を作りその活性を調べた。PGI/AMF のリン酸化は PGI/AMF の細胞運動刺激能および分泌に影響をおよぼさなかった。しかし細胞内での解糖酵素としての働き (PGI 活性) はリン酸化により著明に抑制された。これは *in vivo* でも *in vitro* でも同様の結果であった。PGI/AMF は dimer を形成することが知られているが興味深いことにリン酸化により tetramer も形成するようになった。PGI/AMF の結晶構造解析ではリン酸化による蛋白の構造変化は検出されなかった (図 1)。PGI/AMF がリン酸化により PGI 活性を失う原因は明らかでないがひとつにはリン酸化による陰性荷電で酵素活性部位に微細な変化がおきることあげられる。もうひとつには tetramer の形成により酵素活性が落ちることが考えられる。多くの腫瘍細胞では糖代謝が亢進している事が知られているが解糖を制御すると考えられる PGI/AMF のリン酸化の研究は今後腫瘍細胞の制御に役立つものと考えられる。

1 群馬県前橋市昭和町3-39-15 群馬大学医学部附属病院整形外科

平成18年12月12日 受付

論文別刷請求先 〒371-8511 群馬県前橋市昭和町3-39-15 群馬大学医学部附属病院整形外科 柳川天志

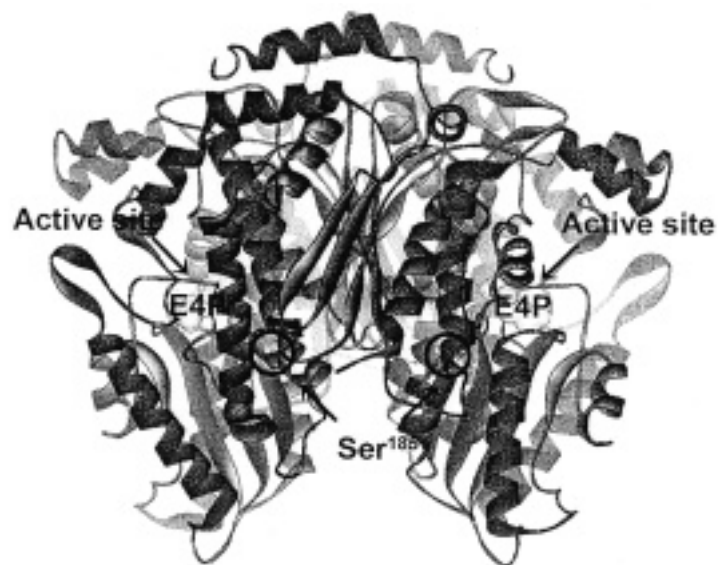


図 1

## 文 献

1. Yanagawa T, Watanabe H, Takeuchi T, Fujimoto S, Kurihara H, Takagishi K. Overexpression of autocrine motility factor in metastatic tumor cells: possible association with augmented expression of KIF3A and GDI-beta. *Lab Invest.* 2004; 84: pp.513-522.
2. Watanabe H, Takehana K, Date M, Shinozaki T, Raz A. Tumor cell autocrine motility factor is the neuroleukin/phosphohexose isomerase polypeptide. *Cancer Res.* 1996; 56: pp.2960-3.
3. Yanagawa T, Funasaka T, Tsutsumi S, Raz T, Tanaka N, Raz A. Differential regulation of phosphoglucose isomerase/autocrine motility factor activities by protein kinase CK2 phosphorylation. *J Biol Chem.* 2005; 280: pp.10419-10426.
4. Haga A, Niinaka Y, Raz A. Phosphohexose isomerase/autocrine motility factor/neuroleukin/maturation factor is a multifunctional phosphoprotein. *Biochim Biophys Acta.* 2000; 1480: pp.235-244.