

30P-am06

PP5/PPP2R3C による P-糖タンパク質 / ABCB1 の発現と活性制御

○片山 和浩¹, 野口 耕司¹, 杉本 芳一¹(¹慶應大薬)

【目的】P-糖タンパク質 (P-gp, ABCB1 ; *MDR1* 遺伝子がコード) は抗がん剤排出ポンプとして働き、がん細胞における抗がん剤耐性の原因となる。我々は P-gp の発現や活性を制御する因子を探索するために、yeast two hybrid および免疫沈降-MALDI/TOF MS screening を行った。その結果、P-gp の C-末端に存在する細胞内領域 (C-ter P-gp, 997-1280 aa; 3'-*MDR1*, 2989-3840 bp) に結合するタンパク質として、protein phosphatase 2 (PP2), regulatory subunit B, gamma (PPP2R3C) が同定された。PPP2R3C は PP2Ac や PP5 の phosphatase 活性を制御するサブユニットである。本研究では、protein phosphatase による P-gp のリン酸化の制御と、それに伴う P-gp の発現や機能制御を明らかにすることを目的とした。【方法】*PPP2R3C*, *PP2Ac* α/β , *PP5* 遺伝子を 3'-*MDR1* とともに HEK293 細胞に遺伝子導入し、免疫沈降-western blot により C-ter P-gp と *PPP2R3C*, *PP2Ac* α/β , *PP5* の結合を検討した。また、内因性 P-gp を発現する HCT-15, SW620-14, OVCAR-8, HEK293 細胞に *PP5* siRNA および *PPP2R3C* siRNA を導入し、細胞膜表面の P-gp の発現変化および機能変化を検討した。【結果】免疫沈降-western blot では、*PP5* と *PPP2R3C* は C-ter P-gp と共沈したが、*PP2A* α/β は共沈しなかった。siRNA transfection 実験では、*PP5* siRNA および *PPP2R3C* siRNA の導入により内因性の P-gp 発現が増大した。また、P-gp の基質である rhodamine 123 の細胞内蓄積量は減少した。【考察】*PP5*/*PPP2R3C* の発現は、P-gp の発現量を負に制御することが明らかになった。今後、*PP5*/*PPP2R3C* による P-gp の脱リン酸化部位を同定し、その部位の変異体の安定性などについて検討していく。