

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 栗 原 重 一

インスリン様成長因子-I (IGF-I) は、多くの細胞に、増殖・分化誘導、細胞死抑制、同化促進活性などを示し、そのため、動物の成長や発達に必須なホルモンであることが明らかとなってきている。このホルモンのシグナル伝達機構については、IGF-Iが受容体に結合後、受容体チロシンキナーゼが活性化され、活性化されたチロシンキナーゼがインスリン受容体基質 (IRS) をチロシンリン酸化、このIRSのリン酸化チロシン残基を認識してSH2ドメインを持った様々なシグナル分子が相互作用し、これらの相互作用を介してMAP kinase経路やPI 3-kinase経路をはじめとした種々の情報伝達系が活性化、結果として多種多様な生理活性が発現すると考えられている。

本論文では、IGF-Iの細胞内シグナルの方向と量の調節を可能とする新しいシグナル修飾機構を解明することを目的に研究を行ったもので、序章、3つの章、総合討論からなる。

まず、序章では、本研究の背景および意義を概説し、本研究の目的と本論文の構成について述べている。

続いて、第1章では、神経細胞の増殖・分化誘導の良いモデルとなっているヒト神経芽細胞SH-SY5Yを用いて、増殖・分化それぞれを誘導するために、IGF-Iのどのようなシグナル伝達経路の活性化が必要であるかについて検討している。IGF-Iに応答したMAP kinase経路やPI 3-kinase経路の活性化が、この細胞の増殖・分化誘導に果たす役割を調べるために、IGF-I処理時にMAP kinase経路の阻害剤PD98059 (MEK阻害剤)あるいはPI 3-kinase経路の阻害剤LY294002 (PI 3-kinase阻害剤)を添加して、増殖および分化を解析した。その結果、SH-SY5Y細胞では、IGF-Iによる増殖誘導にはMAP kinase経路及びPI 3-kinase経路が同時に活性化されることが必要であり、分化誘導にはMAP kinase経路あるいはPI 3-kinase経路のどちらか一方の活性化で十分であることを見出した。

第2章では、IGF-Iレセプターキナーゼの細胞内基質であるIRS1と相互作用し、IGF-Iシグナルを修飾するような分子を同定するために、チロシンリン酸化されていないIRS1と結合している分子のスクリーニングを試みた。すなわち、チロシンキナーゼ活性がほとんど検出されない酵母系を用いて、IRS1をbait、IGF-Iの代表的な標的組織と考えられているヒト胎盤のcDNA libraryをpreyとし、two-hybrid screeningを行った。その結果、14-3-3タンパク質のような細胞内シグナルの調節因子、AP50のようなタンパク質のソーティングに重要な役割を果たすと考えられているタンパク質の他、報告のない複数種の分子の遺伝子取得に成功した。その中で、ダブルZnフィンガーを特徴としたタンパク質間相互作用に重要なLIMドメインを有する新規分子IRSAL (IRS-associated LIM proteinと命名)は、IRS1との結合が特に強く確認されたので、この分子に注目して解析を進め、この分子が細胞内

でIRS1と相互作用し、さらにIRSファミリータンパク質のうちIRS2とも結合することを明らかにした。

第3章では、今回取得したIRSAL cDNA約2.0kbpの全塩基配列を決定し、このcDNAは1,008bp、336アミノ酸からなるORFをコードしており、予想されるアミノ酸配列から、IRSALはLIMドメイン5個のみからなるLIM-only proteinであることを明らかにした。また、IRSALの発現は、主にインスリンやIGF-Iの標的組織で確認され、特に心臓での発現が強いことがわかった。IRSALを過剰発現させた293T細胞では、IRSALは、IGF-Iにより誘導されるIRS1のチロシンリン酸化を増強し、逆にIRS2のチロシンリン酸化を減弱させることを発見した。更に、IRSALは、IGF-Iに応答したAktの活性化には影響しないが、Erkの活性化を増強させることが明らかになった。

総合討論では、本研究で得られた結果をまとめ、その意義を考察し、今後の研究の展望を述べている。

以上、本論文はIRS1あるいはIRS2と相互作用し、受容体キナーゼによるIRSのチロシンリン酸化を変化させ、情報伝達系下流へのシグナルの量を調節している新しいタンパク質を同定したもので、学術上・応用上貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値のあるものと認めた。