

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 小野 啓

本研究はインスリン情報伝達において必要不可欠な役割を果たしている PI 3-キナーゼの逆反応を触媒する PTEN 蛋白のインスリン情報伝達における役割と効果を、PTEN をウイルスベクターを用いて培養細胞に過剰発現させる実験系を用いて調べたものであり、下記の結果を得ている。

1. 野生型 PTEN を過剰発現させたところ、細胞内 PI(3,4)P₂ と PI(3,4,5)P₃ に及ぼす影響は予想外に小さかった。膜に移動する myristoylation signal を付加した野生型 PTEN は PI(3,4)P₂ と PI(3,4,5)P₃ を著明に低下させた。一方、酵素不活性型 PTEN は PI(3,4)P₂ と PI(3,4,5)P₃ を著明に増加させた。この結果から、PTEN が *in vivo* で PI(3,4)P₂ と PI(3,4,5)P₃ を脱リン酸化することによってこれらの量の調節の役割を果たしていることが示された。Myristoylation signal のない野生型 PTEN の効果が小さかったこと、また myristoylation signal 付加型の酵素不活性化型 PTEN の効果が持続的であったことから、PTEN の活性調節に膜への移動が関与している可能性が示唆された。
2. 過剰発現させた蛋白は、インスリン刺激時の Akt リン酸化にも影響を及ぼした。Akt の 2 カ所のリン酸化部位のうち、Thr308 に関しては、そのリン酸化は PI(3,4,5)P₃ 量と並行しており、PI(3,4,5)P₃ または PI(3,4)P₂ が Akt を膜に移動させ膜において PDK1 が Akt の

Thr308 をリン酸化するという仮説を裏付ける結果であった。一方、Ser473 のリン酸化は、酵素不活性型 PTEN によってそのリン酸化が増強されない点で Thr308 とは異なっており、2 カ所のリン酸化が異なる機構で行われることが示唆された。

3. インスリン刺激時の 3T3-L1 脂肪細胞のグルコース取り込みに対しては、myristoylation signal を付加した野生型 PTEN の過剰発現によって、約 40%の低下が認められたが、酵素不活性型 PTEN の過剰発現による影響は認められなかった。酵素不活性型 PTEN によって、PI(3,4)P₂ と PI(3,4,5)P₃ の増加があったにもかかわらず、グルコース取り込みの増強が認められなかったことから、PTEN はインスリン刺激時の糖取り込み機構の調節にはあまり関与していない可能性が示唆された。
4. Akt の Ser473 のリン酸化と、グルコース取り込み量とは並行した動きが認められ、Akt の Ser473 リン酸化と糖取り込みとの間に関連がある可能性が示唆された。

以上、本論文は培養細胞において、PTEN およびその変異体を過剰発現させてその効果を解析することにより、PTEN が PI(3,4)P₂ と PI(3,4,5)P₃ の調節の役割をはたしており、これを介して Akt の Thr308 リン酸化の調節にも強く関与していることを示した。また、PTEN の活性調節に膜への移動が関与していること、および、Akt の Ser473 リン酸化がグルコース取り込み機構に関与している可能性を示唆した。インスリン情報伝達における PI 3-キナーゼより下流の細胞内シグナルの研究に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。