

審査の結果の要旨

氏名 西田基宏

過剰量の活性酸素による酸化ストレスは、細胞内のタンパク質、脂質、核酸などを非特異的に酸化し、生理機能の障害を引き起こす。そのため、活性酸素は生体に悪影響を及ぼす因子として考えられてきた。しかしその一方で、ROS がいくつかの情報伝達経路を活性化する細胞内のメディエーターとして働くことが明らかにされ、生理的機能の発現にも積極的に関与することがわかってきた。

Extracellular signal-regulated kinase (ERK) は mitogen activated protein (MAP) kinase family の一つであり、細胞の増殖・分化・生存に関与している。ERK もまた酸化ストレスにより活性化する情報伝達経路の一つであるが、活性酸素による ERK 活性化における最初の標的分子については全くわかっていなかった。本研究は、心筋細胞の初代培養系を用いて活性酸素の標的分子を見出したものである。以下に本研究によって得られた主要な知見をまとめる。

1) 酸化ストレスによる MAP kinase 活性化の特徴

本研究では、ラット新生仔の培養心室筋細胞を用いて情報伝達系の解析を行った。この細胞は組み換えアデノウィルス法を用いることで高効率に遺伝子を発現させることが可能な細胞内情報伝達系の解析に非常に有用な系である。G タンパク質の $\beta\gamma$ subunit ($G\beta\gamma$) をトラップするペプチドや様々な阻害剤および各種キナーゼ活性を測定することにより、酸化ストレスによる ERK 活性化に $G\beta\gamma$ 、ホスファチジルイノシトール-3-キナーゼ (PI3K)、Src チロシンキナーゼが関与することを明らかにした。さらに、酸化ストレスによる ERK 活性化が受容体非依存的に起きること、新生仔心室筋の細胞膜標品において酸化ストレスによる G タンパク質の活性化が確認されたことから、活性酸素が直接三量体 G タンパク質を活性化していると推測された。

2) 酸化ストレスによる G タンパク質の活性化

1) で示した仮説が本当であるかどうか見極めるため、精製した G タンパク質を用いて活性酸素による活性化を調べた。その結果、活性酸素の標的分子が $G_{i/o}$ タンパク質の α サブユニットであることを見出した。

3) 生理的意義

1), 2) で明らかにした経路が生理的に意味を持つかどうか調べるため、ラット新生仔の培養心室筋細胞に低酸素・再酸素化を行った。その結果、低酸素・再酸素化刺激によって細胞内で産生された活性酸素が G タンパク質を活性化し、遊離した $G\beta\gamma$ が ERK を活性化することを明らかにした。また、これらのメカニズムがラットの心室筋細胞において酸化ストレスに適応するための生存シグナルとして働く可能性を示した。

本研究は、以下に示す 3 つのことを明らかにした。

- 1) 酸化ストレスによる ERK 活性化の標的分子が G タンパク質 (G_i , G_o) の α subunit であることを初めて明らかにした。
- 2) ラット新生仔心室筋細胞において、 $G\alpha$ の活性化により遊離した $\beta\gamma$ subunit が PI3K や Src チロシンキナーゼを介して ERK を活性化することを明らかにした。
- 3) これらのメカニズムは心筋において酸化ストレスに適応するための保護シグナルとして働く可能性を見出した。

本研究結果は、これまで受容体でしか活性化されないと信じられてきた G タンパク質の概念を打ち破る画期的なものであり、またこれまで毒性の面のみが強調されてきた活性酸素が細胞の保護に働く経路をも活性化しうることを示した報告である。

故に、本研究は活性酸素が及ぼす生理機能の理解に多大な寄与をなすものであり、博士（薬学）の学位を授与するに値するものと認めた。