

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 浅野 知一郎

本研究は、インスリンによる糖代謝の促進に重要な役割を演じているとされている PI 3-キナーゼの構造と機能について検討したものである。PI 3-キナーゼは、調節サブユニットと活性サブユニットの 2 量体として存在するが、それぞれのサブユニットについて複数のアイソフォームが存在する。これらのアイソフォームの特徴を検討したもので、以下はその概要である。

1. リン酸化した IRS-1 蛋白をプローブに用いる expression cDNA library のスクリーニング方法によって PI 3-キナーゼ調節サブユニットをコードする cDNA が分離され、その塩基配列が決定された。その結果、PI 3-キナーゼ調節サブユニットをコードする遺伝子は 3 種類存在することが明らかになった。p85 α をコードする遺伝子からは、alternative splicing によっては N 端構造の異なる 55kDa、50kDa の調節サブユニット（それぞれ、p50 α 、p55 α と名付けられた）も発現していることが示された。一方、他 2 つの遺伝子からは p85 β と p55 γ が生じることが照明された。すなわち、PI 3-キナーゼ調節サブユニットとしては 5 種類のアイソフォームが存在し、85kDa、55kDa、50kDa の 3 つのサイズに分類されることが明確に示された。これらの調節サブユニットは、2 つの SH2 ドメインとその間に活性サブユニットとの結合部位を有するという点では共通であるが、N 端構造が異なっており、役割の違いが示唆された。
2. 調節サブユニットの N 端構造の違いがどのような役割の違いを生じさせているかについては、今だ検討の余地が多く残されているが、85kDa の N 端には SH3 ドメインが存在し dynamin が活性化されるのに対して、55kDa の N 端に存在する特異的な 34 アミノ酸からなる部分には tubulin が結合することが示された。これは調節サブユニットのアイソフォームによって細胞内局在が異なる可能性を示唆する知見である。
3. インスリン刺激によって PI 3-キナーゼは活性化されるが、調節サブユニットのアイソフォームによって活性化の程度が異なることが示された。すなわち、p50 α が最も高いインスリン反応性を、p85 β が最も低い反応性を有することが明らかとなった。
4. 一方、活性サブユニットは調節サブユニットの 2 つの SH2 ドメインの間に

結合しており、p110 α と p110 β の2つのアイソフォームが存在する。3T3-L1細胞では、脂肪細胞への分化に伴って p110 β の発現量が増加する。そこで、両者のキナーゼ活性を比較したところ p110 β は p110 α より明らかに低い活性しか有さないが、p110 β は高いインスリン反応性を持ち、p110 α の活性はインスリン刺激によってわずかにしか上昇しないことが明らかになった。すなわち p110 α は高いベーサル活性を持つタイプのサブユニットであり、一方、p110 β はベーサルの活性は低いが高インスリンに対する反応性の高いサブユニットであることが示された。

以上、本論文は、新規調節サブユニットのクローニングを含め、PI 3-キナーゼの構造と機能、特にインスリン反応性に関するサブユニットの特性の違いを報告したものである。インスリンを含めた多くの成長因子や癌遺伝子産物が PI 3-キナーゼを活性化させることが知られているが、本研究はこれらの幅広い細胞生物学の研究分野の発展に貢献するものと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。