

審査の結果の要旨

論文提出者氏名 鶴田 文憲

細胞の生死は、生存シグナルとアポトーシスシグナルがお互いに抑制しあうことで制御されていることが明らかとなっている。その一方で、この制御バランスの崩壊は、癌や神経変性疾患など様々な疾患の発症原因となることが知られている。それゆえ、これら種々の疾患の薬剤開発を行う上でも細胞の生死を制御するメカニズムを解明することは重要な意味があるものと考えられる。本研究ではアポトーシス誘導において重要な役割を持つことが知られている Bax に着目した。通常 Bax は細胞質に局在しているが、様々なストレス刺激によりミトコンドリアへと移行してシトクロム C を放出し、アポトーシスを誘導することが知られている。このことから Bax のミトコンドリア移行は細胞の生死を決定する上で重要なステップとなっていることが考えられる。本研究では、血清刺激によって活性化した生存シグナル、およびストレス刺激により活性化したアポトーシスシグナルが、それぞれどのようにして Bax の局在を制御しているかを解析した。

第一章では、研究の背景、既往の研究及び研究の目的について述べている。

第二章では、血清刺激により活性化した生存シグナルが Bax のミトコンドリア移行を抑制するか解析した結果について述べている。Bax は種々の生存シグナルによりミトコンドリアへの移行が抑制されることが報告されているが、どのようなメカニズムで Bax の局在が制御されているかは明らかではなかった。本章では、まず血清刺激が内在性 Bax のミトコンドリア移行を抑制する活性を持つことを明らかにした。また血清刺激の下流で活性化し、生存促進に貢献する PI3K 経路と MAPK 経路のうち、PI3K の活性化が Bax のミトコンドリア移行を抑制するのに重要であることを示した。その一方で、MAPK 経路は Bax の局在制御には関与しないことを示した。さらに PI3K の下流で活性化する Akt が Bax のミトコンドリア移行を抑制するのに重要であること、Akt 同様、PI3K の下流で活性化する SGK は Bax の局在制御には関与しないことを明らかにした。以上の結果、血清刺激により活性化した PI3K-Akt 経路が Bax のミトコンドリア移行を抑制するのに重要であることを明らかにした。Bax はミトコンドリアを介したアポトーシス誘導において重要な働きをすることから、本章の結果は、生

存シグナルによるアポトーシス抑制メカニズムを解明する上で、重要な知見を与えるものであると結論付けた。

第三章では、ストレス刺激による Bax のミトコンドリア移行誘導メカニズムについて解析した結果について述べている。本章では、Bax の移行を促進するストレス刺激のメディエーターの候補として、様々なストレス刺激で活性化する JNK に着目した。本章では、まず JNK の活性化が Bax のミトコンドリア移行を促進すること、ストレス刺激による Bax のミトコンドリア移行に JNK が必要であることを明らかにした。その一方で、JNK の基質として報告されている転写因子 c-Jun は、JNK による Bax のミトコンドリア移行には関与しないことを明らかにした。次に、Bax の細胞質アンカーとして働くことが報告されている 14-3-3 のうち、14-3-3 ζ の Ser-184 および 14-3-3 σ の Ser-186 が JNK により *in vitro* および *in vivo* でリン酸化されることを示した。さらに、JNK によってリン酸化された 14-3-3 は Bax との結合能が低下することを示した。また、14-3-3 ζ および 14-3-3 σ リン酸化部位変異体を発現させた細胞は JNK による Bax のミトコンドリア移行やシトクロム C の放出、アポトーシス誘導を抑制することを示した。これらの結果、JNK は 14-3-3 のリン酸化を介して Bax のミトコンドリア移行を促進することを明らかにした。本章の結果は、今まで解明されていなかった JNK によるアポトーシス誘導の新規の分子メカニズムを提唱するものであり、アルツハイマー病など JNK が関与していると考えられている疾患の治療法を確立する上でも重要な貢献をなすものであると結論付けた。

第四章では、第二章、第三章の研究について総括している。

以上のように、本論文の提出者はアポトーシス誘導タンパク質である Bax に着目し、生存シグナルおよびアポトーシスシグナルがどのようなメカニズムで Bax の局在制御を行っているかを明らかにした。これらの結果は細胞の生死を制御するメカニズムを解明するのみならず、癌や神経変性疾患など様々な病気の発症原因の解明、薬剤開発におけるターゲット分子の提供、さらには治療法の確立など、医学、薬学、工学分野に多大な貢献をなすことが期待できるものである。

よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。