

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 赤間 剛

Phosphatidylinositol (PI) (3, 4, 5)P₃ (PIP₃) は、膜中に存在する PI(4, 5)P₂ (PIP₂) がリン酸化されて生じるセカンドメッセンジャーで、近年、多くの生命現象に関与していることが明らかにされている。このリン酸化反応を触媒する I 型 PI 3-kinase は、p85/p55 ファミリータンパク質を形成する制御サブユニットと、p110 ファミリータンパク質を形成する触媒サブユニットが結合したヘテロ二量体である。一般に、PI 3-kinase は、チロシンキナーゼを内蔵した受容体が自己リン酸化したもの、あるいはこの受容体キナーゼによってチロシンリン酸化された基質を制御サブユニットの SH2 ドメインが認識して結合し、一過的に触媒サブユニットが活性化、生理活性を発現するものと考えられてきた。しかし最近、PI 3-kinase の持続的な活性化が報告され、このような活性化が必要な生理作用の例も明らかになってきた。したがって、PI 3-kinase の持続的活性化の新しい機構の発見が切望されている。本研究では、PI 3-kinase の持続的活性化を引き起こす新規アダプタータンパク質、125kDa の細胞内タンパク質 (p125) を同定、この性質を明らかにしたもので、序章、本編が 3 章、そして総合討論からなる。

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。

第一章では、p125 を同定、その発現を調べている。ラット甲状腺由来正常細胞 FRTL-5 を甲状腺刺激ホルモン (TSH) と IGF-I で処理すると細胞増殖が相乗的に促進されるが、これは TSH 長時間処理によって起こる cAMP 経路の長期活性化が p125 をチロシンリン酸化し、これに PI 3-kinase p85 制御サブユニット (p85) が結合、持続的に PI 3-kinase p110 触媒サブユニットの活性化を引き起こす、この活性化が IGF-I 依存的な DNA 合成の増強に必須であることが、これまでに見出されている。そこで、dibutyl cAMP で 24 時間処理した FRTL-5 細胞の抽出液を抗 p85 抗体で免疫沈降し、共免疫沈降される p125 を MALDI-TOF/MS に供し、p125 を KIAA1914 と同定した。予想されるアミノ酸配列から、p125 は、N 末端領域にチロシンリン酸化されると p85 と結合する YXXM モチーフを 1 箇所、C 末端領域に coiled-coil ドメインを有する新規シグナル分子と考えられた。また、p125 は様々な臓器で普遍的に発現していた。

第二章では、p125 による PI 3-kinase 活性化機構と p125 の細胞内局在制御機構の解析を行っている。その結果、p125 の N 末端側の YXXM モチーフが src ファミリーキナーゼによってチロシンリン酸化され、これを認識して p85 が結合、

PI 3-kinase 活性が上昇することが明らかとなった。更に、p125 の細胞内局在を調べたところ、p125 は、C 末端側の領域を用いて F-actin 付近に局在することがわかった。

第三章では、cAMP 経路の長時間刺激に応答した p125 の発現調節と cAMP 刺激と IGF-I 刺激によって誘導される相乗的 DNA 合成における p125 の役割の解析を行っている。FRTL-5 細胞を TSH あるいは Bt_2cAMP で種々の時間処理し、p125 の動態を解析した結果、p125 mRNA 量およびタンパク量は、cAMP 処理 8 時間以降、処理時間に応じて増加することが明らかとなった。これを反映して p125 のチロシンリン酸化、p125 と結合した p85 量、そして p125 と結合する PI 3-kinase 活性が上昇した。最後に、FRTL-5 細胞の p125 の発現を抑制あるいは p125 を強発現させ、この細胞を dibutyryl cAMP 24 時間前処理、その後 IGF-I で処理し、DNA 合成を測定した。その結果、p125 発現抑制が、cAMP 前処理により誘導される IGF-I 依存性 DNA 合成の増強を顕著に抑制したのに対して、p125 強発現は、IGF-I 依存性 DNA 合成誘導を有意に亢進することを見出した。

総合討論では、PI 3-kinase の持続的活性化の生理的意義について、他の活性化機構と比較しながら考察している。

このように、本研究は、PI 3-kinase の新しい活性化機構を明らかにしたもので、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）の学位として価値あるものと認めた。