

## 論文内容の要旨

論文題目 *Caenorhabditis elegans* SEK-1 MAPK kinase regulates AKT-1 through CED-3 by oxidative stress

線虫の MAPK kinase のホモログである SEK-1 は酸化ストレスによって、カスパーゼ 3 のホモログである CED-3 を介して AKT-1 を制御する

指導教員 北村俊雄 教授  
東京大学大学院医学系研究科  
平成 15 年 4 月入 (進) 学  
医学博士課程  
生殖発達加齢医学専攻

氏名 坪野洋平

p38 MAPK は様々なストレス、シグナルに反応して、炎症性サイトカイン産生、細胞の分化、アポトーシスなどに関与する。MAPK は ERK, JNK, p38 の 3 つに大きく分類される。p38 を特異的に活性化する MAPK kinase として MKK3,6 が知られている。MKK3,6 の線虫のホモログが SEK-1 であり、線虫では免疫系や発生過程に関与することが分かっている。

インスリンシグナルは、インスリン/IGF-1 がレセプターに結合することによって、PI3 kinase, AKT が次々にリン酸化され活性化する。AKT がその下流の forkhead transcription factor をリン酸化し不活化する。forkhead transcription factor は細胞周期抑制、アポトーシス誘導、肝臓における糖新生などに関与する蛋白の転写を促進する。線虫におけるインスリンシグナルは、寿命や耐性幼虫の形成に深く関与している。また、線虫の forkhead transcription factor のホモログは DAF-16 であり、DAF-16 は飢餓や熱、酸化ストレスなどに反応して核内に移行する。

パラコートは細胞に吸収されると強力に活性酸素を誘導して細胞破壊をもた

らず製剤である。DAF-16はパラコートの一定時間の刺激にも反応して核内へ移行する。ただ、SEK-1の変異体ではこのDAF-16の核内移行が見られず、SEK-1がパラコートによる酸化ストレスに関与し、インスリンシグナルを抑制する可能性が示唆されたが、この機序は明らかにされていない。

哺乳類においては培養細胞を用いた過去の実験において、酸化ストレスによってp38 MAPK kinaseが活性化し、その結果としてカスパーゼ3が活性化することが分かっている。また、別の文献ではカスパーゼ3がAKTを基質として分解することが報告されている。これらの報告をもとに線虫においてパラコートの酸化ストレス刺激によってSEK-1が活性化し、線虫のカスパーゼ3のホモログであるCED-3が活性化することにより、AKT-1が分解され結果としてDAF-16が核内移行するという仮説をたてた。

CED-3の変異体ではSEK-1の変異体と同じくパラコート刺激によってDAF-16の核内移行が見られなかった。また、AKT-1::GFP発現ベクターを作製し、パラコート刺激したところ、N2、JNK-1変異体ではAKT-1の発現低下がみられたのに対し、SEK-1、CED-3変異体ではAKT-1の発現に変化はなかった。以上のことよりパラコートによるDAF-16の核内移行はSEK-1、CED-3が関与し、AKT-1の発現低下によっておこることが分かった。

また、SEK-1の活性化による変化をみるためにSEK-1過剰発現トランスジェニック線虫を作製した。すると、SEK-1の過剰発現により、DAF-16/forkhead transcription factorによって転写が促進されると考えられるCKI-1/p27, EGL-1/Bimなどの細胞周期抑制やアポトーシス誘導に関与する遺伝子の転写増加が認められた。また、SEK-1の過剰発現により卵のアポトーシス細胞の増加も認められ、この結果はSEK-1を介するインスリンシグナルの抑制の可能性を示唆した。

インスリンシグナルは生物の生存、成長、癌化などに重要な役割を果たしており、一方、MAPKは様々なストレスに反応し、ストレスに抵抗する蛋白の活性化や、ときにはアポトーシスを誘導し細胞死へと導く。細胞の生と死という生物にとって必須な機能に深く関与した上記の二つの経路の相互作用の一部を今回、線虫を使った*in vivo*の実験によって示したことは、今後、マウスなどの哺乳動物を使った研究につながり、さらにはヒトにおける老化、癌の治療などの研究の進歩につながるものと考えられる。