

論文審査の結果の要旨

氏名 藤田 一広

細胞の運命決定に関わるシグナル伝達経路は進化的に保存されており、その代表的な経路の一つが Akt 経路である。近年の分子生物学の発展により、Akt 経路を構成する分子は明らかになってきているが、経路を通るシグナルの動態やその制御は未解明の部分が多い。本論文は Akt 経路の動態を計測し、シミュレーションモデルを併用することによりその制御機構を定量的に明らかにすることを目的としている。本論文では、Akt 経路の動態の計測、シミュレーションモデルの構築と解析、周波数応答解析といった主に 3 つの手法で、この目的にアプローチしている。

1. Akt 経路の動態の計測

NGF (神経成長因子)、EGF (上皮増殖因子) に対し、それぞれ増殖と神経様分化といった異なる細胞運命を辿ることが知られている PC12 細胞を用いて Akt 経路の動態を計測した。Akt 経路は NGF、EGF によって活性化され、受容体、Akt、Akt の下流の分子 S6 のリン酸化の時間波形を計測した。その結果、下流にシグナルが伝わるほど、一過性の成分が減衰し、持続性の成分が増強される点が観察された。また、NGF の投与濃度に対して刺激後 30 分、60 分の S6 のリン酸化量は単調増加であるのに対し、EGF の投与濃度に対しては 1ng/mL の濃度で最大のリン酸化量を示す山形のドーズレスポンスが観察された。さらに EGF 刺激時には、受容体と下流のリン酸化の強度の大小関係が逆転していることを発見した。

2. シミュレーションモデルの構築と周波数応答解析

次に、Akt 経路を単純化したモデルを作成し、進化的プログラミング、LM 法を用いてパラメータを推定し、計測結果を再現するシミュレーションモデルを構築した。

系の特性を調べるために周波数応答を解析することは工学分野では一般的な手法である。工学分野ではサイン波を入力として系の応答を調べるが、生物の実験でサイン波を作り出すことは困難である。そこで、本研究ではシミュレーションの時間波形をフーリエ変換によりサイン波に分解し、経路の上流と下流の分子の時間波形から得たサイン波の振幅の比を得ることで、周波数成分ごとのシグナルの伝達効率を求めている。この結果、Akt 経路は直列のローパスフィルタであることが示された。また、経路のカットオフ周波数で周波数帯域を分割し、逆フーリエ変換することにより、時間波形を低・中・高周波数成分に分割して示した。この結果、経路に伝わるシグナルの高周波成分は減衰し、低周波成分が増強されることが示された。Akt 経路のローパスフィルタ特性により、受容体と下流のリン酸化の強度の大小関係が逆転していることが分かった。

3. Akt 経路のローパスフィルタ特性の検証

Akt 経路のローパスフィルタ特性によって、Akt の見ためのシグナルの強度は下がっても、下流の S6 のリン酸化は大きくなる可能性があるという仮説を導いた。この仮説を検証するため、学位申請者は EGFR の阻害剤の作用機序を含めたモデルを作り、パラメータによっては仮説通りの挙動が生じること

を確認した。さらに実験によって我々は実際に、阻害剤が無い時よりも、ある程度の濃度ある時の方がAktの下流のS6のリン酸化が増大することを確認し、Akt経路のローパスフィルタ特性を検証した。

なお、本論文は豊島有氏、宇田新介氏、尾崎裕一氏、久保田浩之氏、黒田真也氏との共同研究であるが、論文提出者が主体となって研究を立案・実行したもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。したがって、博士（科学）の学位を授与できると認める。