

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 尾添 淳文

インスリンやインスリン様成長因子 (IGF) は、物質代謝の同化を促進、異化を抑制し、また多くの細胞種の増殖や分化を誘導、細胞死を抑制することにより、動物の発達・成長・成熟・代謝・老化の制御に重要な役割を果たしているホルモンである。一般に、インスリンや IGF は、標的細胞の細胞膜に存在する特異的な受容体に結合すると、受容体に内蔵されているチロシンキナーゼが活性化、これがインスリン受容体基質 (IRS) をチロシンリン酸化する。このチロシンリン酸化 IRS を認識して相互作用する下流シグナル分子が下流情報伝達経路を活性化し、広範な生理活性が発現すると考えられている。申請者らのグループでは、種々の細胞外因子によってインスリンや IGF の生理活性が調節される機構を解析する過程で、IRS にチロシンリン酸化を介さずに多くのタンパク質が相互作用し巨大なシグナル複合体を形成しており、これらにより IRS のリガンド依存的なチロシンリン酸化や下流シグナル経路が修飾される結果、生理活性が調節されることを見出してきた。更に、IRS と共免疫沈降するタンパク質を質量分析法で、あるいは IRS と相互作用するタンパク質をコードする遺伝子を yeast two-hybrid 法で同定したところ、これらの中には、RNA 代謝に関連する分子群が多数含まれていた。また、IRS は、RNA 自身とも相互作用し、RNA を含む複合体を形成していることも明らかにされている。

本論文は、IRS が RNA や RNA 代謝に関与するタンパク質と相互作用することにより、RNA の翻訳や成熟・安定性等が制御、その結果、インスリン/IGF のタンパク質合成促進などの生理活性発現が調節されることを明らかにしたもので、序章、本論が 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。

続いて第一章では、IRS-1 が、mRNA の cap 構造に結合する eIF4E や eIF4G、pioneer round of translation における mRNA の品質管理等に重要な役割を果たしている exon junction complex に含まれる eIF4A3、そして poly(A) tail に結合する PABPC1 などを含む複合体に共存することが明らかとなった。他の結果を併せ、IRS-1 は、増殖刺激の有無に関わらず mRNA-protein complex (mRNP) と相互作用しているが、増殖刺激に応答して起こる翻訳活性化状態では翻訳マシナリーの足場として機能し、翻訳促進に新しい機構で関与しているものと結論している。

第二章では、IRS-1 と相互作用する mRNA の同定を試みている。IRS-1 の共免疫沈降物に含まれるタンパク質を質量分析法により、RNA 結合ドメインを有するタンパク質、Ras-GAP SH3-domain-binding protein (G3BP1) が同定された。そこで、G3BP1 と IRS-1 の相互作用を調べたところ、RNA を介さないタンパク質-タンパク質間相互作用であることがわかった。G3BP1 は、DNA 損傷など様々なストレスが負荷された細胞において cap 構造非依存的に誘導されるタンパク質合成が誘導される mRNA の 5'末端の非翻訳領域に存在する internal

ribosome entry site (IRES) と相互作用することが報告されている。そこで mRNA に IRES を有し、DNA 損傷により IRES 依存性タンパク質合成が誘導される *bcl-2* mRNA と IRS-1 が相互作用するかを調べることにした。その結果、IRS-1-G3BP1 複合体が *bcl-2* mRNA と相互作用し、これらが *bcl-2* の IRES 依存的な翻訳を促進していることを明らかにした。

第三章では、IRS-1 は既知の RNA 結合ドメインは有していないが、RNA と直接結合する可能性を検討している。*in vivo* UV-crosslinking and immunoprecipitation (CLIP) 法により IRS-1 と直接相互作用する RNA の同定を試みた結果、mRNA の他、non-coding RNA や rRNA が同定された。更に、non-coding RNA の中で核小体小分子 RNA (snoRNA) の一つ、U96A snoRNA (U96A) が RACK1 のイントロンから切り出される過程を、IRS-1 が促進していることを明らかにした。他の結果も併せると、IRS が、rRNA の転写後メチル化修飾および成熟に必要な snoRNA の産生を正に制御し、リボソーム生合成のマシナリーの成熟を促進する結果、全タンパク質合成活性が上昇するという新規機構の存在を示していた。

総合討論では、インスリン・IGF シグナルのアダプター分子としての機能を概説した上で、IRS が RNA および RNA 代謝関連タンパク質と相互作用することで、これまでに報告のない新しい機構により種々のタンパク質の翻訳を制御している可能性について論じている。

このように、本研究では、IRS がスキャフォールドタンパク質として機能し、RNA やその代謝酵素と相互作用、その結果、タンパク質翻訳を調節する、という新しい機構をはじめて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。