

氏 名	もり もと ひろ こ 森 本 裕 子
学位(専攻分野)	博 士 (生命科学)
学位記番号	生 博 第 134 号
学位授与の日付	平 成 20 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	生 命 学 研 究 科 統 合 生 命 学 専 攻
学位論文題目	E R K 5 M A P キ ナ ー ゼ の 転 写 活 性 化 制 御 機 構 の 解 析

論文調査委員 (主査) 教授 西田 栄介 教授 井上 丹 教授 米原 伸

論 文 内 容 の 要 旨

MAPキナーゼ経路は真核生物において良く保存されている細胞内シグナル伝達経路の1つであり、細胞の増殖や分化、ストレス応答などにおいて重要な役割を担っている。MAPキナーゼの内、ERK1/2, JNK, p38, ERK5は比較的良く研究されている。ERK5は酸化ストレスや高浸透圧刺激、成長因子等の細胞外からの刺激によって活性化し、細胞増殖や細胞分化、細胞死等において重要な働きを行っている事が知られている。ERK5はC末端側に他のMAPキナーゼファミリー分子には見られない長い固有の領域を持つ。これまでの研究から、この領域はERK5下流の転写因子であるMEF2, AP-1ファミリーのc-FosやFra-1, PPARr1の転写活性の亢進において役割を果たすと考えられてきた。しかし、この領域がどのようにして下流の転写因子の転写活性を亢進するのか、その詳細なメカニズムについては不明のままであった。そこで、申請者はERK5の固有の領域 (ERK5のC末端半分) の機能を明らかにするために、ERK5の転写活性化制御機構の解析を行った。

申請者はまず、ERK5を2分割したコンストラクト (ERK5N, 及びERK5C) を作成しAP-1サイトを介した転写活性を測定した。その結果、AP-1サイトを介した転写活性を最大に亢進する為にはERK5NとERK5Cの両方が必要である事が示された。更に、AP-1サイトを介した転写活性を亢進する為にはERK5Nのキナーゼ活性が必要である事も分かった。次に申請者は、ERK5N, ERK5C, 及び恒常活性型MEK5 (MEK5D) を細胞に共発現させると、SDS-PAGEにおいてERK5Cのバンドがモビリティシフトする事を見いだした。このモビリティシフトはERK5Cのリン酸化によって生じた事が分かった。また、ERK5Cのリン酸化にはERK5Nのキナーゼ活性が必要である事が示された。更に、活性化したERK5が自身のC末端領域をリン酸化する事が示唆された。次に、ERK5Cのリン酸化に重要な4箇所の部位が同定された。これらの部位の様々なアラニン置換変異体を用いてAP-1サイトを介した転写活性を測定した。その結果、野生型のERK5やERK5Cと比べ、両者のアラニン置換変異体では転写活性が有意に減少した。この事から、AP-1サイトを介した転写活性を亢進するにはERK5のC末端半分のリン酸化が必要である事が示された。また、リン酸化に重要な部位を全てアスパラギン酸に置換したERK5C変異体を単独で細胞に発現させると転写活性が亢進した。この事から、キナーゼ活性がなくともリン酸化したERK5CのみでAP-1サイトを介した転写活性を亢進できる事が分かった。次に、ERK5下流の他の転写因子であるMEF2についても検討し、AP-1と同様にMEF2サイトを介した転写活性を亢進するのもERK5のC末端半分のリン酸化が必要である事が示された。

以上の結果より、ERK5 シグナル伝達におけるERK5の自己リン酸化の重要性が示され、ERK5のC末端半分の新たな役割が同定された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

MAPキナーゼ経路は真核生物において良く保存されている細胞内シグナル伝達経路の1つである。MAPキナーゼファミリー分子の1つであるERK5は、細胞の増殖や分化、ストレス応答において重要な働きをしている。ERK5はC末端側に機能

の良く分かっていない長い固有の領域を持つ。この領域は、ERK5下流の転写因子の転写活性を亢進する際に役割を果たすと考えられている。そこで、申請者はERK5の固有の領域（ERK5のC末端半分）の機能を明らかにするために、ERK5の転写活性化制御機構の解析を行った。

申請者はまず、ERK5を2分割した変異体（ERK5N、及びERK5C）を作成し、AP-1サイトを介した転写活性を測定した。その結果、AP-1サイトを介した転写活性を最大に亢進する為にはERK5NとERK5Cの両方が必要である事を明らかにした。更に、AP-1サイトを介した転写活性を亢進する為にはERK5Nのキナーゼ活性が必要である事も示した。次に申請者は、ERK5N、ERK5C、及びMEK5Dを共発現させた時に見られるERK5CのモビリティシフトがERK5Cのリン酸化によって生じた事を見いだした。また、ERK5Cのリン酸化にはERK5Nのキナーゼ活性が必要である事を示した。これらの結果から申請者は、ERK5Cのリン酸化が転写活性の亢進に役割を果たすのではないかという仮説を立て、それを検証する為にERK5Cのリン酸化部位の同定を試みた。その結果、ERK5Cのリン酸化に重要な4箇所の部位を同定した。これらの部位の様々なアラニン置換変異体を用いてAP-1サイトを介した転写活性を測定し、AP-1サイトを介した転写活性を亢進するにはERK5のC末端半分のリン酸化が必要である事を示した。また、リン酸化に重要な部位を全てアスパラギン酸に置換したERK5C変異体を用いてAP-1サイトを介した転写活性を測定し、キナーゼ活性がなくともリン酸化したERK5CのみでAP-1サイトを介した転写活性を亢進できる事を見いだした。次に申請者は、ERK5下流の他の転写因子であるMEF2についても検討し、AP-1と同様にMEF2サイトを介した転写活性を亢進するのにもERK5のC末端半分のリン酸化が必要である事を示した。

これらの結果から申請者はERK5が転写活性を制御する分子メカニズムを以下のように推定した。ERK5下流での遺伝子発現において、従来は、ERK5の直接的なリン酸化によって下流の転写因子を活性化すると考えられて来たが、これに加えて、分子内の自己リン酸化によってERK5のC末端半分の4箇所の部位がリン酸化され、下流の転写因子の転写活性を亢進するという2つの制御機構が存在する。本研究により、ERK5のC末端半分の新たな役割が同定された。

以上のように、本論文で述べられた成果は非常に重要であり、本論文は博士（生命科学）の学位論文として価値のあるものと認められる。さらに、平成20年1月22日、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。