

氏名	えだ しげ けい すけ 枝 重 圭 祐
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学位記番号	論 農 博 第 1713 号
学位授与の日付	平 成 3 年 11 月 25 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	プロテインキナーゼCの活性制御とその生殖生理学的意義

論文調査委員 (主査) 教授 入谷 明 教授 宮本 元 教授 佐々木義之

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、プロテインキナーゼC (Cキナーゼ) を介した生殖生理現象における細胞質タンパク質と細胞膜との相互作用の重要性の検討を主目的に進められた研究をまとめたものであり、3章より成っている。主な内容はつぎの通りである。

1. Cキナーゼによる細胞内基質タンパク質のリン酸化における基質タンパク質の細胞膜への結合の必要性について、人工リン脂質膜と結合様式の違う既知の3つの可溶性基質タンパク質を用いて検討している。ホルボールミリステートアセテート (TPA) でCキナーゼを活性化した場合、Cキナーゼの活性化の指標となる自己リン酸化は、カルシウムやイオン強度による変動は小さく、活性そのものの変動は小さいことを示唆した。

2. ヒストンやミリスチン酸化リゾチームは、カルシウムによる膜結合量の変化は少なく、アネキシン1はカルシウムに依存して膜結合した。ヒストンとアネキシン1の膜結合量はイオン強度の上昇により著しく減少したが、ミリスチン酸化リゾチームの変動は比較的小さかった。Cキナーゼによるこれらの基質タンパク質のリン酸化量の変化は、いずれの場合も膜結合量の変化とよく相関していた。以上の結果から、Cキナーゼの細胞質内基質タンパク質のリン酸化には基質タンパク質の細胞膜への結合が必要であると結論している。

3. Cキナーゼを介した細胞の分化および増殖における細胞質タンパク質と細胞膜との相互作用の重要性について、それぞれTPAによるHL-60細胞のマクロファージへの分化とTPAの発癌プロモーションをモデルとして検討している。Cキナーゼ阻害物質は、HL-60の分化に伴う諸性質の誘導を阻害するが、アネキシン1の誘導はまったく阻害せず、不完全な分化阻害効果を示した。これらの阻害物質が、HL-60のTPAによる分化に関与すると考えられているCキナーゼ (特にCキナーゼβ) の膜への移行と、その後のタンパク質分解による消失を阻害しないことを示し、これが不完全な分化阻害の原因であることを示唆した。これらの結果から、Cキナーゼの細胞質から細胞膜への移行がCキナーゼを介した分化に重要であると結論している。

4. Cキナーゼ阻害物質であるセファランチンは、TPAの発癌プロモーション作用も、Cキナーゼによるヒストンのリン酸化も強く阻害したが、Cキナーゼの自己リン酸化を阻害しなかった。セファランチンは、ヒストンのリン脂質膜への結合を阻害し、その阻害の程度はCキナーゼによるリン酸化の阻害とよく相関しており、Cキナーゼを介した細胞増殖には細胞質内基質タンパク質の細胞膜への結合が重要な役割を果たしていることを結論している。

5. 排卵誘起等に用いられる非ステロイド系抗エストロジェン剤のCキナーゼ阻害機構について検討している。この薬物は可溶性基質タンパク質のリン脂質膜への結合を阻害し、その濃度依存性はリン酸化阻害と相関していたことから、阻害機構は基質タンパク質と膜との相互作用の阻害であると結論している。またアネキシン1や細胞質タンパク質に対する阻害効果が従来のヒストンを基質タンパク質とした場合と比べて著しく高いことを示した。

論文審査の結果の要旨

個体の発生、生殖腺細胞の増殖や機能分化、性周期の調整等は、情報伝達物質を介して調整されている。そのため、情報伝達機構の解明は生殖生理学的にもきわめて重要である。本研究は、特に細胞膜のリン脂質代謝と共役して細胞内の情報伝達に関与するCキナーゼについて、その情報伝達における細胞質タンパク質と細胞膜との相互作用の役割を明らかにすることを主目的に行った研究をまとめたもので、評価すべき主な点は下記の通りである。

1. Cキナーゼによる可溶性基質タンパク質のリン酸化における基質タンパク質の膜結合の必要性を明らかにし、Cキナーゼによる細胞質内基質タンパク質のリン酸化には基質タンパク質と細胞膜との相互作用が必要であることを明らかにした。

2. ホルボールミリストートアセテート (TPA) による HL-60 の分化に対する Cキナーゼ阻害物質の効果を検討した。阻害物質は不完全な分化阻害効果を示し、その原因が TPA による Cキナーゼ (特に Cキナーゼ β) の細胞質から細胞膜への移行や、その後のタンパク質分解による消失を阻害しないためであることを示した。この結果から、Cキナーゼを介した分化にはCキナーゼの細胞質から細胞膜への移行そのものが重要であることを示した。

3. Cキナーゼ活性と TPA の発癌プロモーションを阻害するセファランチンは、Cキナーゼの基質タンパク質と膜との相互作用を阻害することを明らかにし、Cキナーゼを介した細胞増殖には細胞質内基質タンパク質と細胞膜との相互作用が重要であることを示唆した。

4. 排卵誘発や乳腺癌治療に用いられている非ステロイド系抗エストロジェン剤のCキナーゼ活性阻害機構について検討した。その結果、基質タンパク質とリン脂質膜との相互作用の阻害であることを明らかにした。またアネキシン1を含むいくつかの細胞質タンパク質のリン酸化に対する阻害効果が、ヒストンを基質タンパク質とした場合と比べて5~30倍高いことから、排卵誘発等、従来エストロジェンとの拮抗作用によると考えられてきた低濃度での薬理作用にもCキナーゼ阻害作用が関与している可能性を示した。

以上のように、本論文では、細胞の分化や増殖または排卵等、Cキナーゼが関与する種々の生殖生理現象において、細胞質タンパク質と細胞膜との相互作用が重要な役割を果たしていることを明らかにしている。

これらの成果は、生体内でのCキナーゼを介した情報伝達機構を解明する上で、新たな視点を与えるものであり、生殖生理学の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成3年9月26日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。