

氏名	まつばやし ゆたか 松 林 完
学位の種類	博士 (生命科学)
学位記番号	生博第6号
学位授与の日付	平成16年3月23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	生命科学 研究科 統合生命科学 専攻
学位論文題目	ERK MAPキナーゼの細胞内動態および機能の解析

論文調査委員 (主査) 教授 西田 栄介 教授 根岸 学 教授 佐邊 壽孝

### 論 文 内 容 の 要 旨

ERK1/2 MAPキナーゼ (古典的MAPキナーゼ。以下ERKと呼ぶ。)は酵母から哺乳類に至る真核生物に普遍的に存在し、細胞増殖、細胞分化、初期胚発生など多くの生命現象において、その制御の中枢を担うシグナル伝達分子である。ERKの標的分子は核内にも細胞質にも存在する。よってERKの正しい機能のためには、それがいつ、細胞内のどこで活性化するか?という時間的、空間的制御がきわめて重要である。

当研究では、まず第一章においてERKの核移行機構を解析した。ERKは不活性状態では細胞質に局在しているが、増殖因子の刺激によって活性化すると核内へ移行し、そこで転写因子を含む種々の基質をリン酸化することで細胞の増殖を引き起こす。ERKが活性化しても核移行しなければ細胞は増殖することができないが、核移行の詳細な分子的機構は不明であった。我々は界面活性剤で細胞膜を可溶化したセミインタクト細胞を用いて、ERKが核膜孔複合体との直接相互作用によって核移行することを示した。

一方、細胞質におけるERKの機能についてはこれまであまり光が当たってこなかった。第二章では上皮の創傷治癒においてERKの果たす機能を解析した。上皮の創傷治癒においては、多くの細胞が協調的に運動することが必要である。我々はERKの活性化が傷に面した細胞から後方の細胞に向かって伝播し、細胞層の協調的運動を制御することを示した。細胞運動の制御においては、ERKは核内ではなく細胞質の標的をリン酸化して制御していることが示唆された。さらに、ERKはSrcの下流で活性化すること、およびERK活性化の伝播にはアクチン細胞骨格による細胞の運動が必要であることが示唆された。これらの結果から、細胞運動に伴う張力によってERK活性化および細胞運動を引き起こすシグナルが細胞層内を伝播し、細胞層の協調的運動を制御するというモデルを考えている。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

ERK MAPキナーゼは酵母から哺乳類に至る真核生物に普遍的に存在し、細胞増殖、細胞分化など多くの生命現象において、その制御の中枢を担うシグナル伝達分子である。本論文において、申請者はERKの核移行機構の解析 (第一章)と、ERKが上皮細胞層の協調的運動を制御する機構の解析 (第二章)を行った。

ERKは不活性状態では細胞質に局在しているが、増殖因子の刺激によって活性化すると核内へ移行し、そこで転写因子を含む種々の基質をリン酸化することで細胞の増殖を引き起こす。ERKが活性化しても核移行しなければ細胞は増殖することができないが、核移行の詳細な分子的機構は不明であった。本論文の第一章において、申請者はセミインタクト細胞を用いてERKの核移行を試験管内で再現し、ERKが核膜孔複合体との直接相互作用によって核移行することを示した。これは、ERKシグナル伝達における最重要ステップのひとつである、ERKの核移行機構の一端を明らかにし、ERKのみならず広くシグナル伝達分子一般の細胞内局在機構の理解にも貢献する成果である。

次に、第二章において申請者はERKが上皮細胞層の協調的運動を制御することを示した。細胞の運動には、白血球の遊

走のように単独の細胞が個々に運動する場合と、神経管の閉鎖や創傷治癒にみられるように、細胞層が一体となって運動する場合とがある。そして、単独の細胞の運動機構についてはこれまで多くの研究がなされているが、細胞層の協調的運動を制御する機構についての研究はほとんど進んでいない。申請者はMDCK細胞を用いて上皮細胞層の協調的運動を試験管内で観察する系を確立し、ERKの活性化が細胞層内を伝播し、層全体の協調的運動を制御することを示した。さらに申請者は、細胞層の運動とERK活性化の間に正のフィードバック機構があること、このフィードバックにSrcファミリーキナーゼが関与していることを示唆する結果を得た。これは上皮細胞層内を伝播し、層全体の協調的運動を制御するシグナルを初めて同定した、きわめて興味深い成果であり、細胞生物学、発生生物学など広い分野への貢献が期待される。

以上のように、本論文で述べられた成果は非常に重要で興味深く、この論文は博士（生命科学）の学位論文として価値あるものと認められる。さらに、平成16年1月27日論文内容とそれに関連した口頭試問の結果合格と認めた。