

氏名	みずのひろし 水野浩志
学位(専攻分野)	博士(理学)
学位記番号	理博第2367号
学位授与の日付	平成13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	理学研究科生物科学専攻
学位論文題目	細胞増殖因子により ERK MAP キナーゼ経路を介して発現誘導される プロテインキナーゼ

論文調査委員 (主査) 教授 西田 栄介 教授 米原 伸 教授 井口 八郎

論文内容の要旨

細胞増殖因子による遺伝子の発現誘導には ERK MAP キナーゼ経路が重要な役割を果たしているが、現在までに ERK 経路の活性化で誘導される事が報告されている遺伝子はわずかである。そこで本論文ではまず ERK によって誘導される遺伝子を同定することを目的とした。

活性型 B-Raf を過剰発現する ΔB-Raf:ER 細胞を用いて ERK を強力に活性化し、cDNA サブトラクション法によって ERK の活性化後に誘導される遺伝子のスクリーニングを行った。ERK の活性化後に誘導される遺伝子として SGK (serum- and glucocorticoid-inducible kinase) を同定した。SGK はアミノ酸配列において AKT/PKB, PKC, PKA に高い相同性がある。ERK 経路は様々な増殖因子で共通して活性化されることが知られているので、静止期の NIH-3T3 細胞を様々な増殖因子で刺激し SGK の発現を検討した。その結果 ERK を持続的に活性化させることが可能な FGF, PDGF, あるいは TPA で刺激すると、SGK が強く誘導された。しかし ERK を一時的にしか活性化しない EGF で処理したところ SGK は誘導されなかった。これら増殖因子による SGK の誘導は、MEK の特異的阻害剤である UO126 処理または優性不能型 MEK の過剰発現で阻害された。また恒常的活性型 MEK によって SGK は誘導された。これらの結果より、ERK 経路は SGK の発現誘導に必要な十分であることが示された。シクロヘキシミド処理によって SGK の誘導は阻害されなかったことから SGK の誘導は新たなタンパク質合成を必要としない事が示された。またシクロヘキシミドあるいはバナデイト処理によって ERK の活性化の持続と平行して SGK の誘導も持続した。これらの結果から様々な条件下で ERK の活性化と SGK の誘導が相関していることが示された。転写因子 Ets-2 の過剰発現によって SGK は誘導された。この結果から増殖因子による SGK の誘導は、活性化した ERK が Ets-2 をリン酸化することで SGK の転写を促進している可能性がある。

NIH-3T3 細胞で増殖因子刺激以外にも高浸透圧刺激によって SGK が誘導された。その誘導は p38 経路依存적であった。p38 を活性化する MKK6 の過剰発現によって SGK は誘導された。その MKK6 による誘導は、UO126 によって阻害されなかったことから ERK 経路と p38 経路はそれぞれ SGK を誘導することに十分であることが示された。

SNK (Serum-inducible kinase) と FNK (FGF-inducible kinase) はともに Plk (polo-like kinase) ファミリーのプロテインキナーゼであり、血清あるいは増殖因子刺激で誘導されることが知られている。それらの発現誘導が ERK 経路に依存するか調べたところ、FNK の誘導は ERK に依存しているが、SNK の誘導は ERK に依存していない事が分かった。

次に、SGK の活性化について検討した。SGK は FGF あるいは PDGF 刺激によって活性化した。またその活性化は PI3 キナーゼ経路と ERK 経路に依存していた。以上、本研究では ERK 経路に依存して誘導される遺伝子として SGK を同定し、SGK が細胞増殖因子によって ERK 経路を介して誘導されること、さらに PI3 キナーゼ経路と ERK 経路を介して活性化されることを示した。

論文審査の結果の要旨

細胞は増殖因子刺激によって様々な情報伝達経路が活性化され、その結果、細胞増殖、細胞分化、細胞周期の進行に必要な多種の遺伝子の発現を誘導する。細胞内情報伝達系の多くはプロテインキナーゼカスケードを形成しており、最終的に転写因子をリン酸化することで遺伝子発現へとつながることが近年明らかとなった。ERK MAP キナーゼ経路は細胞増殖因子のシグナル伝達において中心的な役割を果たす経路のひとつであるが、ERK 経路で発現が上昇する遺伝子は十分に明らかにされていない。申請者が ERK によって誘導される遺伝子として SGK (serum- and glucocorticoid-inducible kinase) を同定したことは、ERK 経路によってプロテインキナーゼが誘導されることを示した初めての例であり、価値が高い。

次に申請者は、ERK の活性化と SGK の誘導について研究を行い、SGK が細胞増殖因子によって誘導されることを示した。さらに SGK の誘導には ERK を持続的に活性化させることが必要かつ十分であることを示した。また SGK の誘導は新たなタンパク質合成を必要としない転写の促進によるものであることを示した。このことは SGK の発現が ERK の活性化と関連していることを示しており、今後の ERK による遺伝子発現の研究の進展において貢献するところが大きい。

さらに申請者は、SGK の活性化について研究を行い、SGK が細胞増殖因子によって活性化されることを示した。さらに細胞増殖因子による SGK の活性化は PI3 キナーゼ経路と ERK 経路に依存していることを示した。このことは SGK が ERK MAP キナーゼ経路によって誘導された後、PI3 キナーゼ経路と ERK 経路によって活性化される事を示唆しており、SGK が ERK 経路と PI3 キナーゼ経路のクロストークを担う分子であることが予想される。よって SGK は細胞増殖因子のシグナル伝達を研究において鍵となる因子であり、非常に価値が高いと考えられる。

以上本申請論文は、ERK 経路の活性化によって誘導される遺伝子として SGK を同定し、さらに細胞増殖因子による SGK の誘導および SGK の活性化について解析を行ったものであり、博士(理学)の学位論文として十分に価値あるものとして認められる。

平成13年2月5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。